

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2024-504377  
(P2024-504377A)

(43)公表日 令和6年1月31日(2024.1.31)

| (51)国際特許分類        |                             | F I     |         | テーマコード (参考)                                 |                    |
|-------------------|-----------------------------|---------|---------|---------------------------------------------|--------------------|
| C 1 2 N           | 15/113 (2010.01)            | C 1 2 N | 15/113  | Z Z N A                                     | 4 C 0 7 6          |
| A 6 1 P           | 43/00 (2006.01)             | A 6 1 P | 43/00   | 1 1 1                                       | 4 C 0 8 4          |
| A 6 1 P           | 21/04 (2006.01)             | A 6 1 P | 21/04   |                                             | 4 C 0 8 6          |
| A 6 1 K           | 31/712 (2006.01)            | A 6 1 K | 31/712  |                                             |                    |
| A 6 1 K           | 31/7125 (2006.01)           | A 6 1 K | 31/7125 |                                             |                    |
|                   |                             | 審査請求    | 未請求     | 予備審査請求                                      | 未請求 (全181頁) 最終頁に続く |
| (21)出願番号          | 特願2023-544331(P2023-544331) |         | (71)出願人 | 595104323                                   |                    |
| (86)(22)出願日       | 令和4年1月21日(2022.1.21)        |         |         | アイオーニス ファーマシューティカルズ、インコーポレーテッド              |                    |
| (85)翻訳文提出日        | 令和5年9月8日(2023.9.8)          |         |         | Ionis Pharmaceuticals, Inc.                 |                    |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2022/013323           |         |         | アメリカ合衆国カリフォルニア州92010, カールズバッド, ガゼル コート 2855 |                    |
| (87)国際公開番号        | WO2022/159712               |         | (74)代理人 | 100118902                                   |                    |
| (87)国際公開日         | 令和4年7月28日(2022.7.28)        |         |         | 弁理士 山本 修                                    |                    |
| (31)優先権主張番号       | 63/217,624                  |         | (74)代理人 | 100106208                                   |                    |
| (32)優先日           | 令和3年7月1日(2021.7.1)          |         |         | 弁理士 宮前 徹                                    |                    |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                      |         | (74)代理人 | 100196508                                   |                    |
| (31)優先権主張番号       | 63/231,559                  |         |         | 弁理士 松尾 淳一                                   |                    |
| (32)優先日           | 令和3年8月10日(2021.8.10)        |         | (74)代理人 | 100163784                                   |                    |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                      |         |         |                                             |                    |
| (31)優先権主張番号       | 63/140,674                  |         |         |                                             |                    |
|                   |                             | 最終頁に続く  |         | 最終頁に続く                                      |                    |

(54)【発明の名称】 D U X 4 の発現を低減するための化合物及び方法

(57)【要約】

細胞または動物におけるD U X 4 RNAの量または活性を低減し、場合によっては、細胞または動物におけるD U X 4 タンパク質の量を低減するための化合物、医薬組成物、及び使用方法を提供する。かかる化合物、方法、及び医薬組成物は、筋ジストロフィーの少なくとも1つの症状または特徴を改善するのに有用である。かかる症状及び特徴としては、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下及び／または筋肉消耗が挙げられ、これは、体幹及び／または下肢の筋肉に進行する可能性がある。かかる筋ジストロフィーとしては、顔面肩甲骨上腕型筋ジストロフィー（F S H D）が挙げられる。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

12～50個の連結したヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、DUX4 RNAの等長部分に少なくとも80%相補的であり、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

## 【請求項 2】

12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号20～172のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または20個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

10

## 【請求項 3】

12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号173～1171のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、または16個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

20

## 【請求項 4】

12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、または23個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

## 【請求項 5】

12～50個の連結したヌクレオシドからなり、  
 配列番号1の核酸塩基2697～2730、  
 配列番号1の核酸塩基2756～2778、  
 配列番号1の核酸塩基2732～2760、  
 配列番号1の核酸塩基2783～2806及び／または配列番号2の核酸塩基10～33、  
 配列番号1の核酸塩基2833～2853及び／または配列番号2の核酸塩基60～80、  
 配列番号1の核酸塩基2953～2975及び／または配列番号2の核酸塩基180～202、  
 配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363、  
 配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437、  
 配列番号1の核酸塩基3361～3400及び／または配列番号2の核酸塩基588～627、  
 配列番号1の核酸塩基3883～3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110～1153、  
 配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256、  
 配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の核酸塩基1330～

30

40

50

1 3 6 1、  
配列番号 1 の核酸塩基 4 5 0 3 ～ 4 5 2 2、  
配列番号 1 の核酸塩基 4 5 0 9 ～ 4 5 3 0、  
配列番号 1 の核酸塩基 4 6 6 7 ～ 4 6 9 4 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 1 5 3 2 ～  
1 5 5 9、  
配列番号 1 の核酸塩基 4 8 2 8 ～ 4 8 5 0 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 1 6 9 3 ～  
1 7 1 0、  
配列番号 2 の核酸塩基 7 6 8 ～ 7 8 7、  
配列番号 1 の核酸塩基 2 9 5 5 ～ 2 9 8 4 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 1 8 2 ～ 2  
1 1、  
配列番号 1 の核酸塩基 3 0 9 9 ～ 3 1 2 8 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 3 2 6 ～ 3  
5 5、  
配列番号 1 の核酸塩基 3 1 7 1 ～ 3 2 0 9 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 3 9 8 ～ 4  
3 6、または  
配列番号 1 の核酸塩基 3 8 5 9 ～ 3 8 8 8 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 1 0 8 6 ～  
1 1 1 5  
に相補的な少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも  
12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも  
17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも  
22、または 23 個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを  
含む、オリゴマー化合物であって、  
前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される  
少なくとも 1 つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

10

20

## 【請求項 6】

12 ～ 50 個の連結したヌクレオシドからなり、  
配列番号 24、98、318 ～ 320、359 ～ 361、398 ～ 400、438 ～ 44  
0、852、及び 857、  
配列番号 323、324、364、404、443、及び 444、  
配列番号 73、148、327、367、407、408、208、及び 447、  
配列番号 299、340、379、及び 420 ～ 421、  
配列番号 300 ～ 301、341 ～ 342、380、422、及び 1002、  
配列番号 331、332、370、371、412、413、451、及び 452、  
配列番号 326、366、406、446、及び 777、  
配列番号 100、186、321、362、645、719、791、796、867、  
873、943、946、及び 1019、  
配列番号 802、880、及び 1088 ～ 1090、  
配列番号 668、742、815、893、966、及び 1040、  
配列番号 673、747 ～ 748、822、898、971、及び 1045、  
配列番号 39、678 ～ 681、753 ～ 755、827 ～ 829、903 ～ 905、9  
76 ～ 978、1050 ～ 1052、及び 1135 ～ 1136、  
配列番号 117、684、758、1056、及び 1141 ～ 1144、  
配列番号 123、695 ～ 697、769 ～ 771、843、844、919、920、  
992、993、1066、及び 1067、  
配列番号 67、141、646 ～ 647、720 ～ 721、793 ～ 794、870 ～ 8  
71、945、947 ～ 948、及び 1020 ～ 1021、  
配列番号 652、726、799、876、953、1026、及び 1079、  
配列番号 163、658、732、883、957、1031、及び 1105 ～ 1112  
、  
配列番号 1424 及び 1425、  
配列番号 1214 及び 1410、

30

40

50

配列番号 1405、1209、及び 1210、ならびに

配列番号 1197 及び 1335

から選択される配列の少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも 22、または 23 個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物。

【請求項 7】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列全体にわたって測定した場合に、配列番号 1～4 の核酸塩基配列のいずれかに、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、または 100% 相補的である核酸塩基配列を有する、請求項 1～6 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【請求項 8】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、12～20、12～25、12～30、12～50、13～20、13～25、13～30、13～50、14～20、14～25、14～30、14～50、15～20、15～25、15～30、15～50、16～18、16～20、16～25、16～30、16～50、17～20、17～25、17～30、17～50、18～20、18～25、18～30、18～50、19～20、19～25、19～30、19～50、20～25、20～30、20～50、21～25、21～30、21～50、22～25、22～30、22～50、23～25、23～30、または 23～50 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1～7 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

20

【請求項 9】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項 1～8 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 10】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項 9 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 11】

前記修飾糖部分が、二環式糖部分を含む、請求項 10 に記載のオリゴマー化合物。

30

【請求項 12】

前記二環式糖部分が、 $-O-CH_2-$  及び  $-O-CH(CH_3)-$  から選択される 2' - 4' 架橋を含む、請求項 11 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 13】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、非二環式修飾糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項 10～12 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 14】

前記非二環式修飾糖部分が、2' -  $O(CH_2)_2OCH_3$  リボシル糖部分、cEt 糖部分、2' - OMe 糖部分、または 2' - F 糖部分である、請求項 13 に記載のオリゴマー化合物。

40

【請求項 15】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、糖サロゲートを含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項 10～14 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 16】

前記糖サロゲートが、モルホリノ、修飾モルホリノ、PNA、THP、及び F-HNA のいずれかである、請求項 15 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 17】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、  
1～6 個の連結した 5' 領域ヌクレオシドからなる 5' 領域、  
6～10 個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び

50

1～6個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域

を含む糖モチーフを有し、

前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々が修飾糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む、請求項1～16のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項18】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、

3個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、

10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び

3個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域

10

を含む糖モチーフを有し、

前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々が修飾糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む、請求項1～16のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項19】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、

5個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、

10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び

5個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域

20

を含む糖モチーフを有し、

前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々が修飾糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む、請求項1～16のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項20】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、

3個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、

10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び

3個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域

を有し、

前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々がcEt糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む、請求項17に記載のオリゴマー化合物。

30

【請求項21】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、

5個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、

10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び

5個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域

を有し、

前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々が、2'-O(6H)<sub>2</sub>OC(H)<sub>3</sub>リボシル糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む、請求項17に記載のオリゴマー化合物。

40

【請求項22】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、請求項1～21のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項23】

前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、修飾ヌクレオシド間結合である、請求項22に記載のオリゴマー化合物。

【請求項24】

少なくとも1つのヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項22または請求項23に記載のオリゴマー化合物。

50

## 【請求項 25】

前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項 23 に記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 26】

各ヌクレオシド間結合が、独立して、ホスホジエステルヌクレオシド間結合及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合から選択される、請求項 22 または請求項 24 に記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 27】

前記修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフが、 $5' - \text{ssssssssssssssssssss} - 3'$  及び  $5' - \text{ssssssssssssssssssssssssssss} - 3'$  から選択され、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す、請求項 22～26 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。 10

## 【請求項 28】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾核酸塩基を含む、請求項 1～27 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 29】

前記修飾核酸塩基が、5-メチルシトシンである、請求項 28 に記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 30】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、12～30、12～22、12～20、14～18、14～20、15～17、15～25、16～20、18～22 または 18～20 個の連結したヌクレオシド、またはその医薬的に許容される塩からなる、請求項 1～29 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。 20

## 【請求項 31】

ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムから選択される 1 つ以上のカチオンを含む医薬的に許容される塩である、請求項 30 に記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 32】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、16 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1～31 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 33】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、20 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1～31 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。 30

## 【請求項 34】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、23 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1～31 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 35】

R N a s e H を活性化する、請求項 1～33 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 36】

前記修飾オリゴヌクレオチドからなる、請求項 1～35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。 40

## 【請求項 37】

前記修飾オリゴヌクレオチド及びコンジュゲート基からなる、請求項 1～35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 38】

前記コンジュゲート基が、コンジュゲート部分及びコンジュゲートリンカーを含む、請求項 37 に記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 39】

前記コンジュゲート部分が親油性基である、請求項 38 に記載のオリゴマー化合物。

## 【請求項 40】

前記コンジュゲート部分が、C22 アルキル、C20 アルキル、C16 アルキル、C1 50

0 アルキル、C 2 1 アルキル、C 1 9 アルキル、C 1 8 アルキル、C 1 5 アルキル、C 1 4 アルキル、C 1 3 アルキル、C 1 2 アルキル、C 1 1 アルキル、C 9 アルキル、C 8 アルキル、C 7 アルキル、C 6 アルキル、C 5 アルキル、C 2 2 アルケニル、C 2 0 アルケニル、C 1 6 アルケニル、C 1 0 アルケニル、C 2 1 アルケニル、C 1 9 アルケニル、C 1 8 アルケニル、C 1 5 アルケニル、C 1 4 アルケニル、C 1 3 アルケニル、C 1 2 アルケニル、C 1 1 アルケニル、C 9 アルケニル、C 8 アルケニル、C 7 アルケニル、C 6 アルケニル、及び C 5 アルケニルから選択される、請求項 3 8 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 1】

前記コンジュゲート部分が、6-パルミタミドヘキシルコンジュゲート部分である、請求項 3 8 に記載のオリゴマー化合物。

10

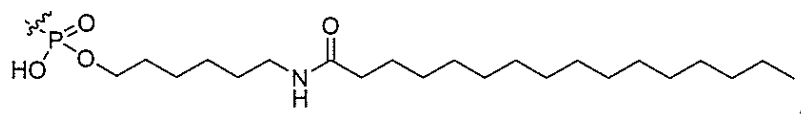
【請求項 4 2】

前記コンジュゲートリンカーが、ホスホジエステルリンカーである、請求項 3 8 ～ 4 1 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 3】

前記コンジュゲート基が、以下の構造を有する、請求項 3 7 ～ 4 2 のいずれかに記載のオリゴマー化合物：

【化 1】



20

【請求項 4 4】

前記コンジュゲートリンカーが単結合からなる、請求項 3 8 ～ 4 3 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 5】

前記コンジュゲートリンカーが切断可能である、請求項 3 8 ～ 4 4 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 6】

前記コンジュゲートリンカーが、1～3個のリンカーヌクレオシドを含む、請求項 3 8 ～ 4 5 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

30

【請求項 4 7】

前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、請求項 3 7 ～ 4 6 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 8】

前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、請求項 3 7 ～ 4 6 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 9】

末端基を含む、請求項 1 ～ 4 8 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 5 0】

リンカーヌクレオシドを含まない、請求項 1 ～ 4 5 または 4 7 ～ 4 9 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

40

【請求項 5 1】

以下の化学構造：

50

## 10

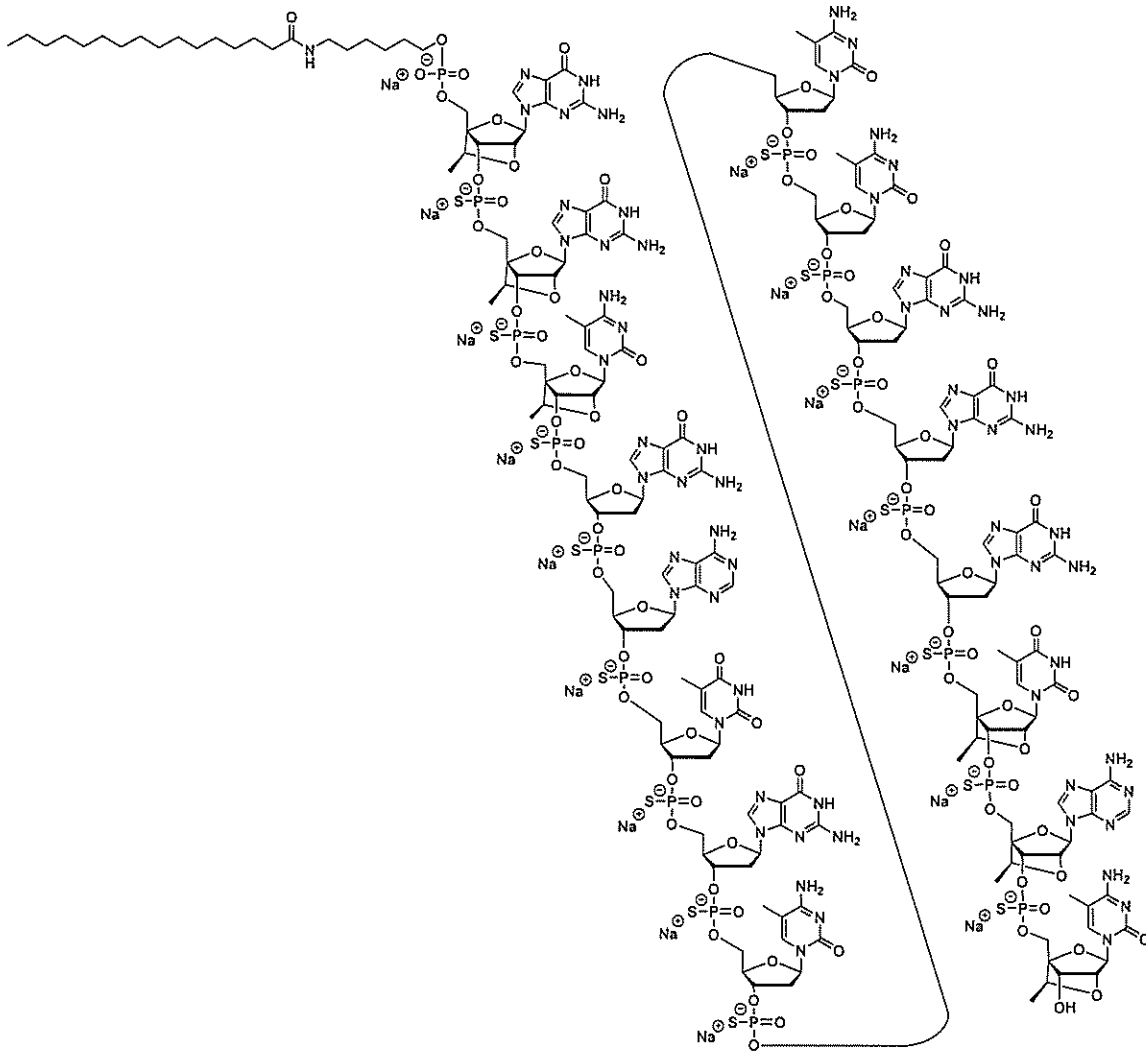


30

40

50

## 【化 3】



10

20

30

## 【請求項 5 4】

以下の化学表記に従う修飾オリゴヌクレオチド及びコンジュゲート基を含むオリゴマー化合物：(6-パルミタミドヘキシル) - G<sub>k</sub>s G<sub>k</sub>s<sup>m</sup>C<sub>k</sub>s G<sub>d</sub>s A<sub>d</sub>s T<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s<sup>m</sup>C<sub>d</sub>s<sup>m</sup>C<sub>d</sub>s<sup>m</sup>C<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s T<sub>k</sub>s A<sub>k</sub>s<sup>m</sup>C<sub>k</sub> (配列番号 2 4 8)、ここで、

A = アデニン核酸塩基、

<sup>m</sup>C = 5-メチルシトシン核酸塩基、

G = グアニン核酸塩基、

T = チミン核酸塩基、

k = c E t 糖部分、

d = 2' - β - D - デオキシリボシル糖部分、及び

s = ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

40

## 【請求項 5 5】

請求項 1 ～ 5 4 のいずれかに記載のオリゴマー化合物のキラル濃縮集団であって、特定の立体化学的配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、前記集団。

## 【請求項 5 6】

(S p) 配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、請求項 5 5 に記載のキラル濃縮集団。

50

## 【請求項 57】

(Rp) 配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、請求項 55 に記載のキラル濃縮集団。

## 【請求項 58】

各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において特定の独立して選択される立体化学的配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、請求項 55 に記載のキラル濃縮集団。

## 【請求項 59】

各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Sp) 配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて、または各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Rp) 配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、請求項 55 に記載のキラル濃縮集団。

10

## 【請求項 60】

1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Rp) 配置を有し、残りのホスホロチオエートヌクレオシド間結合の各々において (Sp) 配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、請求項 55 に記載のキラル濃縮集団。

## 【請求項 61】

5' から 3' の方向に、Sp 配置、Sp 配置、及び Rp 配置で少なくとも 3 つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、請求項 55 に記載のキラル濃縮集団。

20

## 【請求項 62】

請求項 1 ～ 54 のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団であって、前記修飾オリゴヌクレオチドのホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべてがステレオランダムである、前記集団。

## 【請求項 63】

第一のオリゴマー化合物、及び第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二重鎖であって、前記第一のオリゴマー化合物が、請求項 1 ～ 54 のいずれかに記載のオリゴマー化合物である、前記オリゴマー二重鎖。

## 【請求項 64】

前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、12 ～ 50 個の連結したヌクレオシドからなり、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも 90 % 相補的である少なくとも 12 個の核酸塩基の相補的領域を含む、請求項 63 に記載のオリゴマー二重鎖。

30

## 【請求項 65】

以下を含むオリゴマー二重鎖：

19 ～ 30 個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1176 ～ 1241、1308、1310 ～ 1473、または 1638 のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも 22、または 23 個の連続する核酸塩基を含む、前記第一のオリゴマー化合物、及び

40

15 ～ 30 個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも 90 % 相補的である少なくとも 12 個の核酸塩基の相補的領域を含む、前記第二のオリゴマー化合物。

## 【請求項 66】

以下を含むオリゴマー二重鎖：

19 ～ 30 個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一

50

のオリゴマー化合物であって、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1 1 7 6 ~ 1 2 4 1、1 3 0 8、1 3 1 0 ~ 1 4 7 3、または 1 6 3 8 のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも 1 2、少なくとも 1 3、少なくとも 1 4、少なくとも 1 5、少なくとも 1 6、少なくとも 1 7、少なくとも 1 8、少なくとも 1 9、少なくとも 2 0、少なくとも 2 1、少なくとも 2 2、または 2 3 個の連続する核酸塩基を含む、前記第一のオリゴマー化合物、及び

1 5 ~ 3 0 個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1 2 4 2 ~ 1 3 0 7、1 3 0 9、1 4 7 4 ~ 1 6 3 7、または 1 6 3 9 のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも 1 2、少なくとも 1 3、少なくとも 1 4、少なくとも 1 5、少なくとも 1 6、少なくとも 1 7、少なくとも 1 8、少なくとも 1 9、少なくとも 2 0、または 2 1 個の連続する核酸塩基を含み、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも 9 0 % 相補的である、前記第二のオリゴマー化合物。

10

【請求項 6 7】

以下を含むオリゴマー二重鎖：

2 3 個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1 1 7 6 ~ 1 2 4 1、1 3 0 8、1 3 1 0 ~ 1 4 7 3、または 1 6 3 8 のいずれかの核酸塩基配列を含む、前記第一のオリゴマー化合物、及び

20

2 1 個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1 2 4 2 ~ 1 3 0 7、1 3 0 9、1 4 7 4 ~ 1 6 3 7、または 1 6 3 9 のいずれかの核酸塩基配列を含み、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも 9 0 % 相補的である、前記第二のオリゴマー化合物。

【請求項 6 8】

前記第一のオリゴマー化合物の前記修飾オリゴヌクレオチドが、5' - 安定化リン酸基を含む、請求項 6 3 ~ 6 7 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項 6 9】

30

前記 5' - 安定化リン酸基が、シクロプロピルホスホネートまたはビニルホスホネートを含む、請求項 6 8 に記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項 7 0】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、請求項 6 3 ~ 6 9 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項 7 1】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの前記修飾糖部分が、二環式糖部分を含む、請求項 7 0 に記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項 7 2】

前記二環式糖部分が、 $-O-CH_2-$  及び  $-O-CH(CH_3)-$  から選択される 2' - 4' 架橋を含む、請求項 7 1 に記載のオリゴマー二重鎖。

40

【請求項 7 3】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの前記修飾糖部分が、非二環式修飾糖部分を含む、請求項 7 0 に記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項 7 4】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの前記非二環式修飾糖部分が、2' - OMe 糖部分または 2' - F 糖部分である、請求項 7 3 に記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項 7 5】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのヌクレオシドが、糖サロゲートを含む、請求項 6 3 ~ 7 4 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

50



## 【請求項 90】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチド及び前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して、少なくとも1つの修飾核酸塩基を含む、請求項63～89のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 91】

前記少なくとも1つの修飾核酸塩基が、5-メチルシトシンである、請求項90に記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 92】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの1～4個の最も3'側のヌクレオチドが、オーバーハングヌクレオチドである、請求項63～91のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

10

## 【請求項 93】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端において平滑末端である、請求項63～92のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 94】

前記第二のオリゴマー化合物が、コンジュゲート部分及びコンジュゲートリンカーを含むコンジュゲート基を含む、請求項63～93のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 95】

前記コンジュゲートリンカーが単結合からなる、請求項94に記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 96】

前記コンジュゲートリンカーが切断可能である、請求項94に記載のオリゴマー二重鎖。

20

## 【請求項 97】

前記コンジュゲートリンカーが、1～3個のリンカーヌクレオチドを含む、請求項94に記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 98】

前記コンジュゲート基が、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端に結合される、請求項94～97のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 99】

前記コンジュゲート基が、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの3'末端に結合される、請求項94～97のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

30

## 【請求項 100】

前記コンジュゲート基が、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの内部の位置におけるリボシル糖部分の2'位を介して結合される、請求項94～97のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 101】

前記コンジュゲート基が、C22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、C5アルキル、C22アルケニル、C20アルケニル、C16アルケニル、C10アルケニル、C21アルケニル、C19アルケニル、C18アルケニル、C15アルケニル、C14アルケニル、C13アルケニル、C12アルケニル、C11アルケニル、C9アルケニル、C8アルケニル、C7アルケニル、C6アルケニル、またはC5アルケニルを含む、請求項94～101のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

40

## 【請求項 102】

前記コンジュゲート部分が、6-パルミタミドヘキシルコンジュゲート部分である、請求項94～101のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

## 【請求項 103】

前記コンジュゲートリンカーが、ホスホジエステルリンカーである、請求項94または

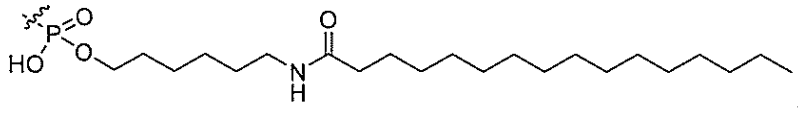
50

96～102のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項104】

前記コンジュゲート基が、以下の構造を有する、請求項94または96～100のいずれかに1項に記載のオリゴマー二重鎖：

【化4】



10

【請求項105】

前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、請求項94～104のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項106】

前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、末端基を含む、請求項63～105のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項107】

前記末端基が脱塩基糖部分である、請求項106に記載のオリゴマー二重鎖。

【請求項108】

前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、12～20、12～25、12～30、12～50、13～20、13～25、13～30、13～50、14～20、14～25、14～30、14～50、15～20、15～25、15～30、15～50、16～18、16～20、16～25、16～30、16～50、17～20、17～25、17～30、17～50、18～20、18～25、18～30、18～50、19～20、19～25、19～30、19～50、20～25、20～30、20～50、21～25、21～30、21～50、22～25、22～30、22～50、23～25、23～30、または23～50個の連結したヌクレオシドからなる、請求項63～107のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

20

【請求項109】

前記第一の修飾オリゴヌクレオチドが、23個の連結したヌクレオシドからなり、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、21個の連結したヌクレオシドからなる、請求項63～66または68～108のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

30

【請求項110】

アンチセンス化合物を含むかまたはそれからなるアンチセンス剤であって、前記アンチセンス化合物が、請求項1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物である、前記アンチセンス剤。

【請求項111】

請求項63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖である、アンチセンス剤。

【請求項112】

請求項110または請求項111に記載のアンチセンス剤であって、  
i) RNase Hの活性化によりDUX4核酸の量を低減することが可能なRNase H剤、または  
ii) RISC/AGO2の活性化によりDUX4核酸の量を低減することが可能なRNAi剤  
である、前記アンチセンス剤。

40

【請求項113】

コンジュゲート基を含む、請求項110～112のいずれかに記載のアンチセンス剤であって、前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、前記アンチセンス剤。

【請求項114】

請求項1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項55～62のいずれかに

50

記載のオリゴマー化合物の集団、請求項 63～109 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、または請求項 110～113 のいずれかに記載のアンチセンス剤、及び医薬的に許容される希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項 115】

前記医薬的に許容される希釈剤が、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）である、請求項 114 に記載の医薬組成物。

【請求項 116】

前記オリゴマー化合物及び PBS から本質的になる、請求項 115 に記載の医薬組成物。

【請求項 117】

前記オリゴマー化合物の集団及び PBS から本質的になる、請求項 115 に記載の医薬組成物。

【請求項 118】

前記オリゴマー二重鎖または前記アンチセンス剤及び PBS から本質的になる、請求項 115 に記載の医薬組成物。

【請求項 119】

請求項 1～54 のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項 55～62 のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、請求項 63～109 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、請求項 110～113 のいずれかに記載のアンチセンス剤、または請求項 114～118 のいずれかに記載の医薬組成物を、対象に投与することを含む方法。

【請求項 120】

DUX4 に関連する疾患または障害の治療方法であって、治療有効量の請求項 1～54 のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項 55～62 のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、請求項 63～109 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、請求項 110～113 のいずれかに記載のアンチセンス剤、または請求項 114～118 のいずれかに記載の医薬組成物を、DUX4 に関連する疾患または障害を有するまたはそれを発症するリスクがある対象に投与し、それにより、前記 DUX4 に関連する疾患または障害を治療することを含む、前記方法。

【請求項 121】

前記 DUX4 に関連する疾患または障害が、筋ジストロフィーである、請求項 120 に記載の方法。

【請求項 122】

前記 DUX4 に関連する疾患または障害が、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）である、請求項 120 に記載の方法。

【請求項 123】

前記 DUX4 に関連する疾患または障害の少なくとも 1 つの症状または特徴が改善される、請求項 120～122 のいずれかに記載の方法。

【請求項 124】

前記症状または特徴が、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下または筋肉消耗である、請求項 123 に記載の方法。

【請求項 125】

請求項 1～54 のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項 55～62 のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、請求項 63～109 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、請求項 110～113 のいずれかに記載のアンチセンス剤、または請求項 114～118 のいずれかに記載の医薬組成物の投与により、前記対象において、筋力低下または筋肉消耗の発症または進行が減少または遅延する、請求項 124 に記載の方法。

【請求項 126】

請求項 1～54 のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項 55～62 のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、請求項 63～109 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、請求項 110～113 のいずれかに記載のアンチセンス剤、または請求項 114～1

10

20

30

40

50

18のいずれかに記載の医薬組成物が、全身投与される、請求項119～125のいずれかに記載の方法。

【請求項127】

前記対象がヒトである、請求項119～126のいずれかに記載の方法。

【請求項128】

細胞におけるDUX4の発現を低減する方法であって、前記細胞を、請求項1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、請求項63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、請求項110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または請求項114～118のいずれかに記載の医薬組成物と接触させることを含む、前記方法。

10

【請求項129】

前記細胞が筋細胞である、請求項128に記載の方法。

【請求項130】

前記細胞がヒト細胞である、請求項128または請求項129に記載の方法。

【請求項131】

請求項1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、請求項63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、請求項110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または請求項114～118のいずれかに記載の医薬組成物の、DUX4に関連する疾患または障害を治療するための使用。

20

【請求項132】

請求項1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、請求項63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、請求項110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または請求項114～118のいずれかに記載の医薬組成物の、DUX4に関連する疾患または障害を治療するための薬剤の製造における使用。

【請求項133】

前記DUX4に関連する疾患または障害がFSHDである、請求項131または請求項132に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、電子形式の配列表とともに出願されている。当該配列表は、2022年1月11日に作成された356KBのサイズのBIOL0415WOSEQ\_\_ST25.txtという名称のファイルとして提供される。該配列表の電子形式の情報は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【0002】

細胞または動物におけるDUX4 RNAの量または活性を低減し、場合によっては、細胞または動物におけるDUX4タンパク質の量を低減するための化合物、方法、及び医薬組成物を提供する。かかる化合物、方法、及び医薬組成物は、筋ジストロフィーまたは神経筋障害の少なくとも1つの症状または特徴を改善するのに有用である。かかる症状及び特徴としては、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下及び筋肉消耗が挙げられ、これは、体幹及び／または下肢の筋肉に進行する可能性がある。

40

【0003】

かかる筋ジストロフィーとしては、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）が挙げられる。

【背景技術】

【0004】

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）は、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨

50

筋に影響を与える進行性の骨格筋障害である。F S H Dは、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下及び筋肉消耗が挙げられるがこれらに限定されない臨床的な様々な症状を特徴とし、体幹及び下肢の筋肉に進行する可能性がある。該障害は、骨格筋細胞におけるdouble homeobox 4 (D U X 4) の異常な発現によって引き起こされる。

#### 【0005】

現在、F S H D等の筋ジストロフィーを治療するためにふさわしい選択肢が不足している。従って、かかる疾患または障害を治療するための化合物、方法、及び医薬組成物を提供することが本明細書の目的である。

#### 【発明の概要】

#### 【0006】

D U X 4 RNAの量または活性を低減し、ある特定の実施形態では、細胞または動物におけるD U X 4タンパク質の量を低減するための化合物、医薬組成物、及び使用方法を本明細書に提供する。ある特定の実施形態では、該動物は、D U X 4に関連する疾患または障害を有する。ある特定の実施形態では、該動物は、筋ジストロフィーを有する。ある特定の実施形態では、該動物は、神経筋障害を有する。ある特定の実施形態では、該動物は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (F S H D) を有する。ある特定の実施形態では、D U X 4 RNAの量または活性を低減するために有用な化合物は、オリゴマー化合物である。ある特定の実施形態では、D U X 4 RNAの量または活性を低減するために有用な化合物は、修飾オリゴヌクレオチドである。

#### 【0007】

D U X 4に関連する疾患または障害の少なくとも1つの症状または特徴を改善するために有用な方法もまた提供する。ある特定の実施形態では、該D U X 4に関連する疾患または障害は、神経筋障害である。ある特定の実施形態では、該D U X 4に関連する疾患または障害は、筋ジストロフィーである。ある特定の実施形態では、該筋ジストロフィーは、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (F S H D) である。ある特定の実施形態では、該症状または特徴としては、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下及び／または筋肉消耗が挙げられ、これは、体幹及び／または下肢の筋肉に進行する可能性がある。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0008】

前述の概要及び以下の詳細な説明はいずれも、例示及び説明にすぎず、制限するものではないことを理解されたい。本明細書において、単数形の使用は、別途明確に記述されない限り、複数形を含む。本明細書で使用される、「または」の使用は、別途定めのない限り、「及び／または」を意味する。さらに、「を含めて」という用語、ならびに「含む」及び「含まれる」等の他の形態の使用は、限定的なものではない。また、「要素」または「成分」等の用語は、別途明確に記述されない限り、1つのユニットを含む要素及び成分、ならびに2つ以上のサブユニットを含む要素及び成分の両方を包含する。

#### 【0009】

本明細書で使用される節の見出しは、構成目的のみのためであり、記載される主題を限定するものと解釈されるべきではない。特許、特許出願、記事、書籍、及び論文が挙げられるがこれらに限定されない本出願において引用されるすべての文書または文書の一部は、本明細書で論じられる文書の一部に対して、かつそれらの全体において、参照により本明細書に明確に組み込まれる。

#### 【0010】

##### 定義

具体的な定義が与えられない限り、本明細書に記載される分析化学、合成有機化学、ならびに医化学及び製薬化学に関連して用いられる命名法、ならびにそれらの手順及び技法は、周知のものであり、当技術分野で一般的に使用されているものである。容認される場合、本開示の全体を通じて参照されるすべての特許、特許出願、特許出願公開、ならびに他の刊行物及び他のデータは、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

## 【0011】

別段の指示がない限り、下記の用語は、以下の意味を有する。

## 【0012】

本明細書で使用される、「2'-デオキシヌクレオシド」は、2'-H (H) デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、2'-デオキシヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシヌクレオシドであり、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含み、これは、天然に存在するデオキシリボ核酸 (DNA) に見られるようなβ-Dリボシル配置を有する。ある特定の実施形態では、2'-デオキシヌクレオシド、または非修飾2'-デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドは、修飾核酸塩基を含む場合もあれば、RNA核酸塩基 (ウラシル) を含む場合もある。

10

## 【0013】

本明細書で使用される、「2'-MOE」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>基を意味する。「2'-MOE糖部分」または「2'-オームトキシエチル糖部分」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>基を有する糖部分を意味する。別段の指示がない限り、2'-MOE糖部分は、β-D配置にある。「MOE」は、オームトキシエチルを意味する。

## 【0014】

本明細書で使用される、「2'-MOEヌクレオシド」または「2'-O (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>ヌクレオシド」とは、2'-MOE糖部分 (または2'-O (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>リボシル糖部分) を含むヌクレオシドを意味する。

20

## 【0015】

本明細書で使用される、「2'-OMe」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH<sub>3</sub>基を意味する。「2'-オームチル糖部分」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH<sub>3</sub>基を有する糖部分を意味する。別段の指示がない限り、2'-OMeは、β-Dリボシル立体化学配置を有する。

## 【0016】

本明細書で使用される、「2'-OMeヌクレオシド」とは、2'-OMe糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

## 【0017】

本明細書で使用される、「2'-F」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-フルオロ基を意味する。「2'-F糖部分」または「2'-フルオロリボシル糖部分」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-F基を有する糖部分を意味する。別段の指示がない限り、2'-Fは、β-Dリボシル立体化学配置を有する。

30

## 【0018】

本明細書で使用される、「2'-Fヌクレオシド」とは、2'-F糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

## 【0019】

本明細書で使用される、「2'-置換ヌクレオシド」とは、2'-置換フラノシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。本明細書で使用される、糖部分に関する「2'-置換」は、HまたはOH以外の少なくとも1つの2'-置換基を含む糖部分を意味する。

40

## 【0020】

本明細書で使用される、「3'標的部位」は、アンチセンスオリゴヌクレオチドが標的核酸にハイブリダイズされる際の該アンチセンスオリゴヌクレオチドに相補的である標的核酸の最も3'側のヌクレオチドを指す。

## 【0021】

本明細書で使用される、「5'標的部位」は、アンチセンスオリゴヌクレオチドが標的核酸にハイブリダイズされる際の該アンチセンスオリゴヌクレオチドに相補的である標的核酸の最も5'側のヌクレオチドを指す。

## 【0022】

本明細書で使用される、「5-メチルシトシン」は、5位に結合したメチル基で修飾さ

50

れたシトシンを意味する。5-メチルシトシンは、修飾核酸塩基である。

【0023】

本明細書で使用される、「脱塩基糖部分」は、核酸塩基に結合していないヌクレオシドの糖部分を意味する。かかる脱塩基糖部分は、当技術分野では「脱塩基ヌクレオシド」と呼ばれることがある。

【0024】

本明細書で使用される、「投与」または「投与すること」は、動物に薬剤または組成物を提供することを意味する。

【0025】

本明細書で使用される、治療に関する「改善する」とは、少なくとも1つの症状または特徴における、治療をしない場合の同じ症状または特徴と比較した改善を意味する。ある特定の実施形態では、改善とは、症状もしくは特徴の重症度もしくは頻度の低下、または症状もしくは特徴の重症度もしくは頻度における発症の遅延もしくは進行の遅延である。ある特定の実施形態では、該症状または特徴は、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下または筋肉消耗であり、これは、体幹及び下肢の筋肉に進行する可能性がある。指標の進行または重症度は、主観的尺度または客観的尺度によって決定され得、これらは当業者に既知である。

【0026】

本明細書で使用される、「動物」は、ヒトまたは非ヒト動物を意味する。

【0027】

本明細書で使用される、「アンチセンス活性」とは、アンチセンス化合物のその標的核酸へのハイブリダイゼーションに起因し得る任意の検出可能な及び／または測定可能な変化を意味する。ある特定の実施形態では、アンチセンス活性は、アンチセンス化合物の不在下での標的核酸レベルまたは標的タンパク質レベルと比較した、標的核酸またはかかる標的核酸によってコードされるタンパク質の量または発現の減少である。

【0028】

本明細書で使用される、「アンチセンス剤」とは、アンチセンス化合物及び任意に1つ以上のさらなる特徴、例えば、センス化合物を意味する。

【0029】

本明細書で使用される、「アンチセンス化合物」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチド及び任意に1つ以上のさらなる特徴、例えば、コンジュゲート基を意味する。

【0030】

本明細書で使用される、「センス化合物」とは、センスオリゴヌクレオチド及び任意に1つ以上のさらなる特徴、例えば、コンジュゲート基を意味する。

【0031】

本明細書で使用される、「アンチセンスオリゴヌクレオチド」とは、標的核酸にハイブリダイズすることが可能でありかつ少なくとも1つのアンチセンス活性が可能なアンチセンス化合物のオリゴヌクレオチド部分を含めたオリゴヌクレオチドを意味する。アンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド及びアンチセンスRNase Hオリゴヌクレオチドが挙げられるがこれらに限定されない。

【0032】

本明細書で使用される、「センスオリゴヌクレオチド」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチドにハイブリダイズすることが可能なセンス化合物のオリゴヌクレオチド部分を含めたオリゴヌクレオチドを意味する。

【0033】

本明細書で使用される、「二環式ヌクレオシド」または「BNA」とは、二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0034】

本明細書で使用される、「二環式糖」または「二環式糖部分」とは、2つの環を含む修飾された糖部分を意味し、ここでは、第一の環の原子のうちの2つを結合する架橋を介し

10

20

30

40

50

て第二の環が形成され、それによって二環式構造が形成される。ある特定の実施形態では、該二環式糖部分の第一の環は、フラノシル糖部分である。ある特定の実施形態では、該フラノシル糖部分は、リボシル糖部分である。ある特定の実施形態では、該二環式糖部分は、フラノシル糖部分を含まない。

【0035】

本明細書で使用される、2つのオリゴヌクレオチドによって形成されるオリゴマー二重鎖に関する「平滑」または「平滑末端」は、末端の不對ヌクレオチドがない（すなわち、オーバーハングヌクレオチドがない）ことを意味する。二本鎖RNA i 剤の一端または両末端は平滑であってもよい。

【0036】

本明細書で使用される、「細胞標的化部分」とは、特定の細胞型（複数可）に結合することが可能なコンジュゲート基またはコンジュゲート基の部分の意味する。

【0037】

本明細書で使用される、「脳脊髄液」または「CSF」とは、脳及び脊髄の周囲の空間を満たす流体を意味する。「人工脳脊髄液」または「aCSF」とは、脳脊髄液と同様のある特定の特性（例えば、浸透圧、pH、及び／または電解質）を有し、CSFと生体適合性のある調製または製造された流体を意味する。

【0038】

本明細書で使用される、「キラル濃縮集団」とは、同一の分子式の複数の分子を意味し、ここでは、特定のキラル中心で特定の立体化学配置を含む該集団内の分子の数またはパーセンテージは、該特定のキラル中心がステレオランダムであった場合に該集団内の同じ特定のキラル中心で同じ特定の立体化学配置を含むことが予想される分子の数またはパーセンテージよりも大きい。各分子内に複数のキラル中心を有する分子のキラル濃縮集団は、1つ以上のステレオランダムなキラル中心を含み得る。ある特定の実施形態では、該分子は、修飾オリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該分子は、修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物である。

【0039】

本明細書で使用される、「切断可能な部分」は、生理学的条件下で、例えば、細胞、動物、またはヒトの内部で切断される結合または原子団を意味する。

【0040】

本明細書で使用される、オリゴヌクレオチドに関する「相補的」とは、当該オリゴヌクレオチド及び別の核酸の核酸塩基配列を反対の向きでアラインした場合に、該オリゴヌクレオチドまたはその1つ以上の部分の核酸塩基の少なくとも70%と、該別の核酸またはその1つ以上の部分の核酸塩基が、互いに水素結合が可能であることを意味する。本明細書で使用される、「相補的な核酸塩基」とは、互いに水素結合を形成することが可能な核酸塩基を意味する。相補的な核酸塩基対としては、アデニン（A）とチミン（T）、アデニン（A）とウラシル（U）、シトシン（C）とグアニン（G）、5-メチルシトシン（<sup>m</sup>C）とグアニン（G）が挙げられる。天然の核酸塩基または他の修飾核酸塩基と対合するある特定の修飾核酸塩基は、当技術分野で知られている。例えば、イノシンは、アデノシン、シトシン、またはウラシルと対合することができる。相補的オリゴヌクレオチド及び／または核酸は、各ヌクレオチドにおける核酸塩基相補性を有することを必要としない。むしろ、いくつかのミスマッチは許容される。本明細書で使用される、オリゴヌクレオチド、またはその部分に関する「完全に相補的」または「100%相補的」とは、オリゴヌクレオチド、またはその部分が別のオリゴヌクレオチドまたは核酸に対して、該2つのオリゴヌクレオチドの短い方の各核酸塩基において、または該オリゴヌクレオチドが同じ長さの場合には各ヌクレオチドにおいて、相補的であることを意味する。

【0041】

本明細書で使用される、オリゴヌクレオチドに関する「相補的領域」とは、第二のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸と相補的であるオリゴヌクレオチドの核酸塩基の範囲である。

10

20

30

40

50

## 【0042】

本明細書で使用される、「コンジュゲート基」とは、オリゴヌクレオチドに直接結合した原子団を意味する。コンジュゲート基は、コンジュゲート部分及び該コンジュゲート部分を該オリゴヌクレオチドに結合するコンジュゲートリンカーを含む。

## 【0043】

本明細書で使用される、「コンジュゲートリンカー」とは、コンジュゲート部分をオリゴヌクレオチドにつなげる単結合、または少なくとも1つの結合を含む原子団を意味する。

## 【0044】

本明細書で使用される、「コンジュゲート部分」とは、コンジュゲートリンカーを介してオリゴヌクレオチドに結合した原子団を意味する。

10

## 【0045】

本明細書で使用される、オリゴヌクレオチドの文脈における「連続する」とは、互いに直接隣接するヌクレオシド、核酸塩基、糖部分、またはヌクレオシド間結合を指す。例えば、「連続する核酸塩基」とは、配列において互いに直接隣接する核酸塩基を意味する。

## 【0046】

本明細書で使用される、「拘束エチル」または「c E t」または「c E t 修飾糖部分」とは、二環式糖の第二の環が $\beta$ -Dリボシル糖部分の4'-炭素及び2'-炭素を結合する架橋を介して形成されている $\beta$ -Dリボシル二環式糖部分を意味し、ここでは、該架橋は、式4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'を有し、該架橋のメチル基は、S配置をとる。

20

## 【0047】

本明細書で使用される、「c E tヌクレオシド」とは、c E t 修飾糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

## 【0048】

本明細書で使用される、「デオキシ領域」とは、ヌクレオシドの少なくとも70%が2'- $\beta$ -D-デオキシヌクレオシドである5~12個の連続するヌクレオチドの領域を意味する。ある特定の実施形態では、各ヌクレオシドは、2'- $\beta$ -D-デオキシヌクレオシド、二環式ヌクレオシド、及び2'-置換ヌクレオシドから選択される。ある特定の実施形態では、デオキシ領域は、RNase H活性を支援する。ある特定の実施形態では、デオキシ領域は、ギャップマーのギャップまたは内部領域である。

30

## 【0049】

本明細書で使用される、「希釈剤」とは、薬理活性を欠いているが、医薬上必要であるかまたは望ましい、組成物の成分を意味する。例えば、注射される組成物の希釈剤は、液体、例えば、aCSF、PBS、または生理食塩水であり得る。

## 【0050】

本明細書で使用される、領域またはオリゴヌクレオチドに関する「二本鎖」は、互いにハイブリダイズした核酸（オリゴヌクレオチドが挙げられるがこれに限定されない）の相補鎖によって形成される二重鎖を意味する。ある特定の実施形態では、二本鎖領域の2本の鎖は別個の分子である。ある特定の実施形態では、該2本の鎖は、それ自体の上に折りたたまれた同じ分子の領域である（例えば、ヘアピン構造）。

40

## 【0051】

本明細書で使用される、「二重鎖」または「二重鎖領域」は、互いにハイブリダイズされる2つのオリゴヌクレオチドまたはその部分によって形成される構造を意味する。

## 【0052】

本明細書で使用される、「ギャップマー」とは、1つ以上のヌクレオシドを有する外部領域の間に配置されるRNase Hの切断を支援する複数のヌクレオシドを有する内部領域を含む修飾オリゴヌクレオチドを意味し、該内部領域を含むヌクレオシドは、該外部領域を含むヌクレオシド（複数可）とは化学的に異なる。該内部領域は、「ギャップ」と称される場合があり、該外部領域は、「ウイング」または「ウイングセグメント」と称される場合がある。ある特定の実施形態では、該内部領域は、デオキシ領域である。該内部

50

領域またはギャップの位置は、該内部領域のヌクレオシドの順序を指し、該内部領域の 5' 末端から数えられる。別段の指示がない限り、「ギャップマー」は、糖モチーフを指す。ある特定の実施形態では、該ギャップの各ヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、該ギャップは、該ギャップの 1、2、3、4、または 5 位に 1 つの 2'-置換ヌクレオシドを含み、該ギャップのヌクレオシドの残りは、2'-β-D-デオキシヌクレオシドである。本明細書で使用される、「MOE ギャップマー」という用語は、2'-β-D-デオキシヌクレオシドを含むギャップ及び 2'-MOE ヌクレオシドを含むウイングを有するギャップマーを示す。本明細書で使用される、「混合ウイングギャップマー」という用語は、少なくとも 2 つの異なる糖修飾を含む修飾ヌクレオシドを含むウイングを有するギャップマーを示す。別段の指示がない限り、ギャップマーは、1 つ以上の修飾ヌクレオシド間結合及び／または修飾核酸塩基を含んでもよく、かかる修飾は、必ずしも該糖修飾のギャップマーパターンに従うとは限らない。

10

#### 【0053】

本明細書で使用される、「ホットスポット領域」とは、標的核酸の量または活性のオリゴマー剤またはオリゴマー化合物媒介性の低減に適した標的核酸上の核酸塩基の範囲である。

#### 【0054】

本明細書で使用される、「ハイブリダイゼーション」とは、オリゴヌクレオチド及び／または核酸のアニリングを意味する。特定のメカニズムに限定されないが、ハイブリダイゼーションの最も一般的なメカニズムは、相補的核酸塩基の間のワトソン・クリック、フーグスティーン、または逆フーグスティーン水素結合であり得る水素結合に関与する。ある特定の実施形態では、相補的核酸分子としては、アンチセンス化合物及び核酸標的が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、相補的核酸分子としては、オリゴヌクレオチド及び核酸標的が挙げられるがこれらに限定されない。

20

#### 【0055】

本明細書で使用される、「ヌクレオシド間結合」とは、オリゴヌクレオチド中の連続するヌクレオシド間の共有結合を意味する。本明細書で使用される、「修飾ヌクレオシド間結合」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合以外の任意のヌクレオシド間結合を意味する。「ホスホロチオエートヌクレオシド間結合」または「PS ヌクレオシド間結合」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合の非架橋酸素原子のうちの 1 つが硫黄原子で置き換えられた修飾ヌクレオシド間結合である。

30

#### 【0056】

本明細書で使用される、「反転ヌクレオシド」は、本明細書に示す 3' と 3' 及び／または 5' と 5' のヌクレオシド間結合を有するヌクレオチドを意味する。

#### 【0057】

本明細書で使用される、「反転糖部分」とは、3' と 3' 及び／または 5' と 5' のヌクレオシド間結合を有する反転ヌクレオシドの糖部分または脱塩基糖部分を意味する。

#### 【0058】

本明細書で使用される、「連結ヌクレオシド」とは、連続した配列においてつながっているヌクレオシドである（すなわち、連結されているヌクレオシド間に追加のヌクレオシドが存在しない）。

40

#### 【0059】

本明細書で使用される、「リンカーヌクレオシド」とは、オリゴヌクレオチドをコンジュゲート部分に直接または間接的にいずれかで連結するヌクレオシドを意味する。リンカーヌクレオシドは、オリゴマー化合物のコンジュゲートリンカー内に位置する。リンカーヌクレオシドは、それらが該オリゴヌクレオチドと連続していても、該オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチド部分の一部とは見なされない。

#### 【0060】

本明細書で使用される、「ミスマッチ」または「非相補的」とは、第一及び第二の核酸配列が反対方向にアラインされる場合に、第二の核酸配列または標的核酸の対応する核酸

50

塩基と相補的ではない第一の核酸配列の核酸塩基を意味する。

【0061】

本明細書で使用される、「モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドにおける修飾されていない及び／または修飾された糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合のパターンを意味する。

【0062】

本明細書で使用される、「非二環式修飾糖部分」とは、第二の環を形成するための糖の2つの原子間に架橋を形成しない、置換基等の修飾を含む修飾糖部分を意味する。

【0063】

本明細書で使用される、「核酸塩基」とは、非修飾核酸塩基または修飾核酸塩基を意味する。本明細書で使用される、「非修飾核酸塩基」は、アデニン（A）、チミン（T）、シトシン（C）、ウラシル（U）、またはグアニン（G）である。本明細書で使用される、「修飾核酸塩基」は、少なくとも1つの非修飾核酸塩基と対合することが可能な非修飾A、T、C、U、またはG以外の原子団である。「5-メチルシトシン」は、修飾核酸塩基である。ユニバーサル塩基とは、該5種類の非修飾核酸塩基のいずれか1つと対合することできる修飾核酸塩基である。

10

【0064】

本明細書で使用される、「核酸塩基配列」は、任意の糖またはヌクレオシド間結合修飾とは無関係の標的核酸またはオリゴヌクレオチドにおける連続する核酸塩基の順序を意味する。

20

【0065】

本明細書で使用される、「ヌクレオシド」は、核酸塩基及び糖部分を含む化合物または化合物の断片を意味する。該核酸塩基及び糖部分は、各々独立して、非修飾であるか、または修飾されている。

【0066】

本明細書で使用される、「修飾ヌクレオシド」とは、修飾核酸塩基及び／または修飾糖部分を含むヌクレオシドを意味する。修飾ヌクレオシドとしては、核酸塩基を欠く脱塩基ヌクレオシドが挙げられる。「連結ヌクレオシド」とは、連続した配列においてつながっているヌクレオシドである（すなわち、連結されているヌクレオシド間に追加のヌクレオシドが存在しない）。

30

【0067】

本明細書で使用される、「オリゴマー剤」とは、オリゴマー化合物及び任意に1つ以上のさらなる特徴、例えば、第二のオリゴマー化合物を意味する。オリゴマー剤は、一本鎖オリゴマー化合物であってもよいし、2つの相補的なオリゴマー化合物によって形成されるオリゴマー二重鎖であってもよい。

【0068】

本明細書で使用される、「オリゴマー化合物」とは、オリゴヌクレオチド、及び任意に、コンジュゲート基または末端基等の1つ以上のさらなる特徴を意味する。オリゴマー化合物は、第一のオリゴマー化合物に相補的な第二のオリゴマー化合物と対合してもよく、不對でもよい。「一本鎖オリゴマー化合物」は、不對オリゴマー化合物である。

40

【0069】

「オリゴマー二重鎖」という用語は、相補的核酸塩基配列を有する2つのオリゴマー化合物によって形成される二重鎖を意味する。オリゴマー二重鎖の各オリゴマー化合物は、「二重鎖オリゴマー化合物」と呼ばれることがある。

【0070】

本明細書で使用される、「オリゴヌクレオチド」とは、ヌクレオシド間結合を介して接続した連結ヌクレオシドの鎖を意味し、各ヌクレオシド及びヌクレオシド間結合は修飾されていても非修飾でもよい。別段の指示がない限り、オリゴヌクレオチドは8～50個の連結ヌクレオシドからなる。本明細書で使用される、「修飾オリゴヌクレオチド」とは、少なくとも1つのヌクレオシドまたはヌクレオシド間結合が修飾されているオリゴヌクレ

50

オチドを意味する。本明細書で使用される、「非修飾オリゴヌクレオチド」とは、いずれのヌクレオシド修飾またはヌクレオシド間修飾も含まないオリゴヌクレオチドを意味する。オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドに相補的な第二のオリゴヌクレオチドと対合してもよく、不對でもよい。「一本鎖オリゴヌクレオチド」は、不對オリゴヌクレオチドである。「二本鎖オリゴヌクレオチド」は、第二のオリゴヌクレオチドと対合するオリゴヌクレオチドである。

【0071】

本明細書で使用される、「修飾オリゴヌクレオチド」とは、少なくとも1つのヌクレオシドまたはヌクレオシド間結合が修飾されているオリゴヌクレオチドを意味する。本明細書で使用される、「非修飾オリゴヌクレオチド」とは、いずれのヌクレオシド修飾またはヌクレオシド間修飾も含まないオリゴヌクレオチドを意味する。

10

【0072】

本明細書で使用される、「医薬的に許容される担体または希釈剤」とは、動物への投与に使用するのに適した任意の物質を意味する。ある特定のかかる担体により、医薬組成物を、動物による経口摂取用の、例えば、錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液、及びロゼンジとして製剤化することが可能になる。ある特定の実施形態では、医薬的に許容される担体または希釈剤は、滅菌水、滅菌生理食塩水、滅菌緩衝液、または滅菌人工脳脊髄液である。

【0073】

本明細書で使用される、「医薬的に許容される塩」とは、化合物の生理学的及び医薬的に許容される塩を意味する。医薬的に許容される塩は、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、かつそれに望ましくない毒物学的影響を与えない。

20

【0074】

本明細書で使用される、「医薬組成物」とは、対象への投与に適した物質の混合物を意味する。例えば、医薬組成物は、オリゴマー化合物及び滅菌水溶液を含み得る。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、ある特定の細胞株における遊離状態での取り込み (free uptake) アッセイにおいて活性を示す。

【0075】

本明細書で使用される、「プロドラッグ」とは、動物またはその細胞内で第二の形態に変換される、体外での第一の形態の治療薬を意味する。典型的には、動物内でのプロドラッグの変換は、細胞または組織に存在する酵素 (例えば、内因性もしくはウイルス性酵素) もしくは化学物質の作用によって、及び／または生理学的条件によって促進される。ある特定の実施形態では、該プロドラッグの第一の形態は、第二の形態よりも活性が低い。

30

【0076】

本明細書で使用される、「量または活性の低減または阻害」とは、未処理または対照サンプルにおける転写発現または活性と比較した転写発現または活性の低減または遮断を指し、必ずしも転写発現または活性の完全な除去を示すものではない。

【0077】

本明細書で使用される、「RNA」とは、RNA転写物を意味し、特に明記しない限り、pre-mRNA及び成熟mRNAを含む。

40

【0078】

本明細書で使用される、「RNAi剤」とは、少なくとも部分的に、RISCまたはAGO2を介して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するように作用するアンチセンス剤を意味する。RNAi剤としては、二本鎖siRNA、一本鎖RNA (ssRNAi)、及びマイクロRNA模倣体を含めたマイクロRNAが挙げられるがこれらに限定されない。RNAi剤は、コンジュゲート基及び／または末端基を含んでもよい。ある特定の実施形態では、RNAi剤は、標的核酸の量、活性、及び／またはスプライシングを調節する。RNAi剤という用語は、RNase Hを介して作用するアンチセンス剤は除外する。

【0079】

50

本明細書で使用される、「RNase H剤」とは、RNase Hを介して作用して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するアンチセンス剤を意味する。ある特定の実施形態では、RNase H剤は、一本鎖である。ある特定の実施形態では、RNase H剤は、二本鎖である。RNase H剤は、コンジュゲート基及び／または末端基を含み得る。ある特定の実施形態では、RNase H剤は、標的核酸の量及び／または活性を調節する。RNase H剤という用語は、主にRISC/Ago2を介して作用するアンチセンス剤を除外する。

【0080】

本明細書で使用される、「アンチセンスRNase Hオリゴヌクレオチド」とは、標的配列に相補的であり、RNase Hの介在による核酸の低減に適切な少なくとも1つの化学修飾を含む領域を含むオリゴヌクレオチドを意味する。

10

【0081】

本明細書で使用される、「アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド」とは、標的配列に相補的であり、RNAiの介在による核酸の低減に適切な少なくとも1つの化学修飾を含む領域を含むオリゴヌクレオチドを意味する。

【0082】

本明細書で使用される、オリゴヌクレオチドに関する「自己相補的な」とは、それ自体に対して少なくとも部分的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを意味する。

【0083】

本明細書で使用される、「一本鎖」は、対になっておらず、二重鎖の一部ではない核酸（オリゴヌクレオチドが挙げられるがこれに限定されない）を意味する。一本鎖化合物は、相補的な核酸とハイブリダイズして二重鎖を形成することができ、その時点で、それらはもはや一本鎖ではない。

20

【0084】

本明細書で使用される、「安定化リン酸基」とは、DNAまたはRNA上で天然に生じる5'-リン酸よりも代謝的に安定である5'-リン酸類似体を意味する。

【0085】

本明細書で使用される、「標準インビトロアッセイ」とは、実施例1、2、または13に記載されるアッセイ及びその合理的な変形を意味する。ある特定の実施形態では、「標準インビトロRNase Hアッセイ」とは、RNase H剤を使用するためのインビトロアッセイを意味し、実施例1または実施例2に記載のアッセイ及びその合理的な変形を含み得る。ある特定の実施形態では、「標準インビトロRNAiアッセイ」とは、RNAi剤を使用するためのインビトロアッセイを意味し、実施例13に記載のアッセイ及びその合理的な変形を含み得る。

30

【0086】

本明細書で使用される、「標準インビボアッセイ」とは、実施例6に記載のアッセイ及びその合理的な変形を意味する。

【0087】

本明細書で使用される、同一の分子式の分子の集団の文脈における「ステレオランダムキラル中心」とは、ランダムな立体化学的配置を有するキラル中心を意味する。例えば、ステレオランダムキラル中心を含む分子集団において、(S)配置のステレオランダムキラル中心を有する分子の数は、(R)配置のステレオランダムキラル中心を有する分子の数と同じである場合もあるが、必ずしも同じではない。キラル中心の立体化学的配置は、立体化学的配置を制御するように設計されていない合成法の結果である場合にはランダムであると見なされる。ある特定の実施形態では、ステレオランダムキラル中心は、ステレオランダムホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

40

【0088】

本明細書で使用される、「対象」は、ヒトまたは非ヒト動物を意味する。ある特定の実施形態では、該対象は、ヒトである。

【0089】

50

本明細書で使用される、「糖部分」とは、非修飾糖部分または修飾糖部分を意味する。本明細書で使用される、「非修飾糖部分」とは、RNAに見られるような2'-OH(H)β-D-リボシル糖部分(「非修飾RNA糖部分」)、またはDNAに見られるような2'-H(H)β-D-デオキシリボシル糖部分(「非修飾DNA糖部分」)を意味する。非修飾糖部分は、1'、3'、及び4'位の各々に1個の水素、3'位に酸素、及び5'位に2個の水素を有する。本明細書で使用される、「修飾糖部分」または「修飾糖」とは、修飾されたフラノシル糖部分または糖サロゲートを意味する。

#### 【0090】

本明細書で使用される、「糖サロゲート」とは、核酸塩基を、オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシド間結合、コンジュゲート基、または末端基等の別の基に結合し得るフラノシル部分以外を有する修飾糖部分を意味する。糖サロゲートを含む修飾ヌクレオチドは、オリゴヌクレオチド内で1つ以上の位置に組み込まれることができ、かかるオリゴヌクレオチドは、相補的オリゴマー化合物または標的核酸にハイブリダイズすることが可能である。

10

#### 【0091】

本明細書で使用される、「症状または特徴」とは、疾患または障害の存在または程度を示す任意の物理的特徴または試験結果を意味する。ある特定の実施形態では、症状は、対象またはかかる対象を検査または試験する医療専門家にとって明らかである。ある特定の実施形態では、特徴は、死後検査が挙げられるがこれに限定されない侵襲的診断検査により明らかである。ある特定の実施形態では、症状及び特徴としては、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下及び筋肉消耗が挙げられ、これは、体幹及び下肢の筋肉に進行する可能性がある。

20

#### 【0092】

本明細書で使用される、「標的核酸」及び「標的RNA」は、アンチセンス化合物が作用するように設計されている核酸を意味する。標的RNAとは、RNA転写産物を意味し、別様に明記されない限り、pre-mRNA及び成熟mRNAを含む。

#### 【0093】

本明細書で使用される、「標的領域」とは、オリゴマー化合物がハイブリダイズするように設計される標的核酸の一部を意味する。

#### 【0094】

本明細書で使用される、「末端基」とは、オリゴヌクレオチドの末端に共有結合した化学基または原子団を意味する。

30

#### 【0095】

本明細書で使用される、「治療すること」とは、本明細書に記載のオリゴマー剤またはオリゴマー化合物を投与することによって対象の疾患または状態を改善することを意味する。ある特定の実施形態では、対象を治療することにより、治療をしない場合の同じ症状と比較して症状が改善される。ある特定の実施形態では、治療により、症状の重症度もしくは頻度が低下するか、または症状の発現が遅れ、症状の進行が遅延し、もしくは症状の重症度もしくは頻度が低下する。

#### 【0096】

本明細書で使用される、「治療有効量」とは、動物に治療効果をもたらす薬剤または組成物の量を意味する。例えば、治療有効量は、疾患の症状を改善する。

40

#### 【0097】

特定の実施形態

本開示は、以下の非限定的な番号付けされた実施形態を提供する。

#### 【0098】

実施形態1. 12~50個の連結したヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、DUX4 RNAの等長部分に少なくとも80%相補的であり、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、

50

前記オリゴマー化合物。

【0099】

実施形態2. 12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号20～172のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または20個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【0100】

実施形態3. 12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号173～1171のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、または16個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

10

【0101】

実施形態4. 12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、または23個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

20

【0102】

実施形態5. 12～50個の連結したヌクレオシドからなり、  
配列番号1の核酸塩基2697～2730、  
配列番号1の核酸塩基2756～2778、  
配列番号1の核酸塩基2732～2760、  
配列番号1の核酸塩基2783～2806及び／または配列番号2の核酸塩基10～33  
、  
配列番号1の核酸塩基2833～2853及び／または配列番号2の核酸塩基60～80  
、  
配列番号1の核酸塩基2953～2975及び／または配列番号2の核酸塩基180～202、  
配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363、  
配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437、  
配列番号1の核酸塩基3361～3400及び／または配列番号2の核酸塩基588～627、  
配列番号1の核酸塩基3883～3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110～1153、  
配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256、  
配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の核酸塩基1330～1361、  
配列番号1の核酸塩基4503～4522、  
配列番号1の核酸塩基4509～4530、  
配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559、  
配列番号1の核酸塩基4828～4850及び／または配列番号2の核酸塩基1693～

30

40

50

1 7 1 0、

配列番号 2 の核酸塩基 7 6 8 ~ 7 8 7、

配列番号 1 の核酸塩基 2 9 5 5 ~ 2 9 8 4 及び / または配列番号 2 の核酸塩基 1 8 2 ~ 2 1 1、

配列番号 1 の核酸塩基 3 0 9 9 ~ 3 1 2 8 及び / または配列番号 2 の核酸塩基 3 2 6 ~ 3 5 5、

配列番号 1 の核酸塩基 3 1 7 1 ~ 3 2 0 9 及び / または配列番号 2 の核酸塩基 3 9 8 ~ 4 3 6、または

配列番号 1 の核酸塩基 3 8 5 9 ~ 3 8 8 8 及び / または配列番号 2 の核酸塩基 1 0 8 6 ~ 1 1 1 5 に相補的な少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも 22、または 23 個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、

前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも 1 つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【0103】

実施形態 6. 12 ~ 50 個の連結したヌクレオシドからなり、

配列番号 24、98、318 ~ 320、359 ~ 361、398 ~ 400、438 ~ 440、852、及び 857、

配列番号 323、324、364、404、443、及び 444、

配列番号 73、148、327、367、407、408、208、及び 447、

配列番号 299、340、379、及び 420 ~ 421、

配列番号 300 ~ 301、341 ~ 342、380、422、及び 1002、

配列番号 331、332、370、371、412、413、451、及び 452、

配列番号 326、366、406、446、及び 777、

配列番号 100、186、321、362、645、719、791、796、867、873、943、946、及び 1019、

配列番号 802、880、及び 1088 ~ 1090、

配列番号 668、742、815、893、966、及び 1040、

配列番号 673、747 ~ 748、822、898、971、及び 1045、

配列番号 39、678 ~ 681、753 ~ 755、827 ~ 829、903 ~ 905、976 ~ 978、1050 ~ 1052、及び 1135 ~ 1136、

配列番号 117、684、758、1056、及び 1141 ~ 1144、

配列番号 123、695 ~ 697、769 ~ 771、843、844、919、920、992、993、1066、及び 1067、

配列番号 67、141、646 ~ 647、720 ~ 721、793 ~ 794、870 ~ 871、945、947 ~ 948、及び 1020 ~ 1021、

配列番号 652、726、799、876、953、1026、及び 1079、

配列番号 163、658、732、883、957、1031、及び 1105 ~ 1112、

配列番号 1424 及び 1425、

配列番号 1214 及び 1410、

配列番号 1405、1209、及び 1210、ならびに

配列番号 1197 及び 1335 から選択される配列の少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも 22、または 23 個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物。

【0104】

10

20

30

40

50

実施形態 7. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列全体にわたって測定した場合に、配列番号 1～4 の核酸塩基配列のいずれかに、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、または 100% 相補的である核酸塩基配列を有する、実施形態 1～6 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0105】

実施形態 8. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、12～20、12～25、12～30、12～50、13～20、13～25、13～30、13～50、14～20、14～25、14～30、14～50、15～20、15～25、15～30、15～50、16～18、16～20、16～25、16～30、16～50、17～20、17～25、17～30、17～50、18～20、18～25、18～30、18～50、19～20、19～25、19～30、19～50、20～25、20～30、20～50、21～25、21～30、21～50、22～25、22～30、22～50、23～25、23～30、または 23～50 個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態 1～7 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【0106】

実施形態 9. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 1～8 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0107】

実施形態 10. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 9 に記載のオリゴマー化合物。

20

【0108】

実施形態 11. 前記修飾糖部分が、二環式糖部分を含む、実施形態 10 に記載のオリゴマー化合物。

【0109】

実施形態 12. 前記二環式糖部分が、 $-O-CH_2-$  及び  $-O-CH(CH_3)-$  から選択される 2' - 4' 架橋を含む、実施形態 11 に記載のオリゴマー化合物。

【0110】

実施形態 13. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、非二環式修飾糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 10～12 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

30

【0111】

実施形態 14. 前記非二環式修飾糖部分が、2' -  $O(CH_2)_2OCH_3$  リボシル糖部分、cEt 糖部分、2' - OMe 糖部分、または 2' - F 糖部分である、実施形態 13 に記載のオリゴマー化合物。

【0112】

実施形態 15. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、糖サロゲートを含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 10～14 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0113】

実施形態 16. 前記糖サロゲートが、モルホリノ、修飾モルホリノ、PNA、THP、及び F-HNA のいずれかである、実施形態 15 に記載のオリゴマー化合物。

40

【0114】

実施形態 17. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、1～6 個の連結した 5' 領域ヌクレオシドからなる 5' 領域、6～10 個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び 1～6 個の連結した 3' 領域ヌクレオシドからなる 3' 領域を含む糖モチーフを有し、前記 5' 領域ヌクレオシドの各々及び前記 3' 領域ヌクレオシドの各々が修飾糖部分を含む、前記中央領域ヌクレオシドの各々が 2' -  $\beta$ -D-デオキシリボシル糖部分を含む、実施形態 1～16 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0115】

実施形態 18. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、

50

**実施形態 27.** 前記修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフが、 $5' - \text{SSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS} - 3'$  及び  $5' - \text{SSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS} - 3'$  から選択され、各「S」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す、実

50

施形態 22～26 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0125】

実施形態 28．前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾核酸塩基を含む、実施形態 1～27 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0126】

実施形態 29．前記修飾核酸塩基が、5-メチルシトシンである、実施形態 28 に記載のオリゴマー化合物。

【0127】

実施形態 30．前記修飾オリゴヌクレオチドが、12～30、12～22、12～20、14～18、14～20、15～17、15～25、16～20、18～22 または 18～20 個の連結したヌクレオシド、またはその医薬的に許容される塩からなる、実施形態 1～29 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0128】

実施形態 31．ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムから選択される 1 つ以上のカチオンを含む医薬的に許容される塩である、実施形態 30 に記載のオリゴマー化合物。

【0129】

実施形態 32．前記修飾オリゴヌクレオチドが、16 個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態 1～31 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0130】

実施形態 33．前記修飾オリゴヌクレオチドが、20 個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態 1～31 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0131】

実施形態 34．前記修飾オリゴヌクレオチドが、23 個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態 1～31 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0132】

実施形態 35．RNase H を活性化する、実施形態 1～33 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0133】

実施形態 36．前記修飾オリゴヌクレオチドからなる、実施形態 1～35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0134】

実施形態 37．前記修飾オリゴヌクレオチド及びコンジュゲート基からなる、実施形態 1～35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0135】

実施形態 38．前記コンジュゲート基が、コンジュゲート部分及びコンジュゲートリンカーを含む、実施形態 37 に記載のオリゴマー化合物。

【0136】

実施形態 39．前記コンジュゲート部分が親油性基である、実施形態 38 に記載のオリゴマー化合物。

【0137】

実施形態 40．前記コンジュゲート部分が、C22 アルキル、C20 アルキル、C16 アルキル、C10 アルキル、C21 アルキル、C19 アルキル、C18 アルキル、C15 アルキル、C14 アルキル、C13 アルキル、C12 アルキル、C11 アルキル、C9 アルキル、C8 アルキル、C7 アルキル、C6 アルキル、C5 アルキル、C22 アルケニル、C20 アルケニル、C16 アルケニル、C10 アルケニル、C21 アルケニル、C19 アルケニル、C18 アルケニル、C15 アルケニル、C14 アルケニル、C13 アルケニル、C12 アルケニル、C11 アルケニル、C9 アルケニル、C8 アルケニル、C7 アルケニル、C6 アルケニル、及び C5 アルケニルから選択される、実施形態 38 に記載のオリゴマー化合物。

10

20

30

40

50

## 【0138】

実施形態41．前記コンジュゲート部分が、6-パルミタミドヘキシルコンジュゲート部分である、実施形態38に記載のオリゴマー化合物。

## 【0139】

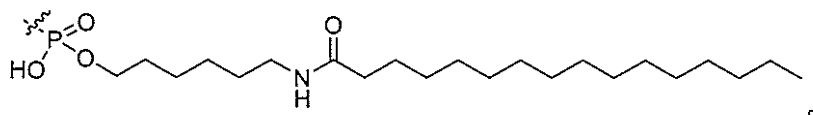
実施形態42．前記コンジュゲートリンカーが、ホスホジエステルリンカーである、実施形態38～41のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【0140】

実施形態43．前記コンジュゲート基が、以下の構造を有する、実施形態37～42のいずれかに記載のオリゴマー化合物：

## 【0141】

## 【化1】



10

## 【0142】

実施形態44．前記コンジュゲートリンカーが単結合からなる、実施形態38～43のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【0143】

実施形態45．前記コンジュゲートリンカーが切断可能である、実施形態38～44のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

20

## 【0144】

実施形態46．前記コンジュゲートリンカーが、1～3個のリンカーヌクレオシドを含む、実施形態38～45のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【0145】

実施形態47．前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、実施形態37～46のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【0146】

実施形態48．前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、実施形態37～46のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

30

## 【0147】

実施形態49．末端基を含む、実施形態1～48のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【0148】

実施形態50．リンカーヌクレオシドを含まない、実施形態1～45または47～49のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

## 【0149】

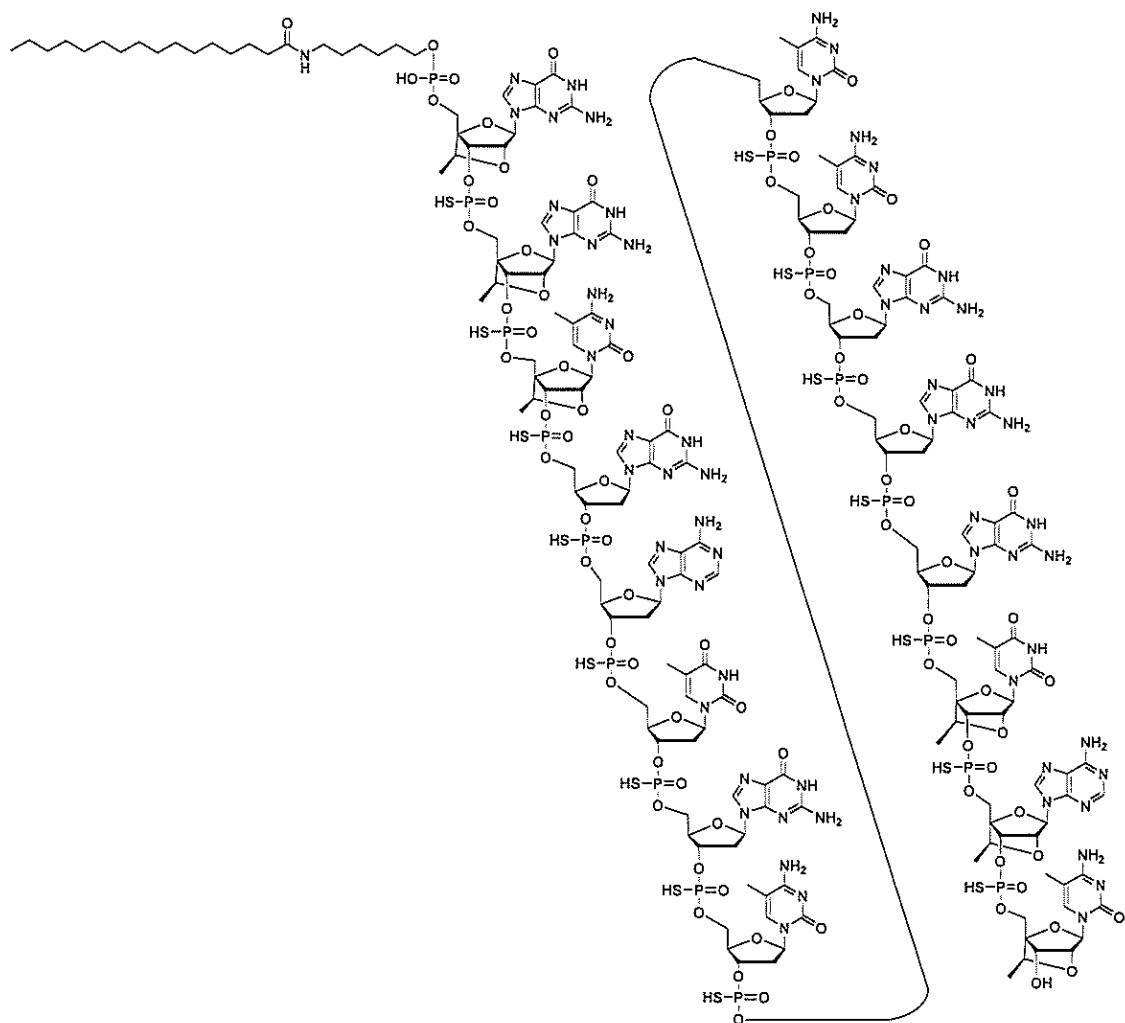
実施形態51．以下の化学構造：

40

## 【0150】

50

## 【化 2】



10

20

30

(配列番号 248) に従うオリゴマー化合物またはその医薬的に許容される塩。

## 【0151】

実施形態 52. ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムから選択される 1 つ以上のカチオンを含む医薬的に許容される塩である、実施形態 51 に記載のオリゴマー化合物。

## 【0152】

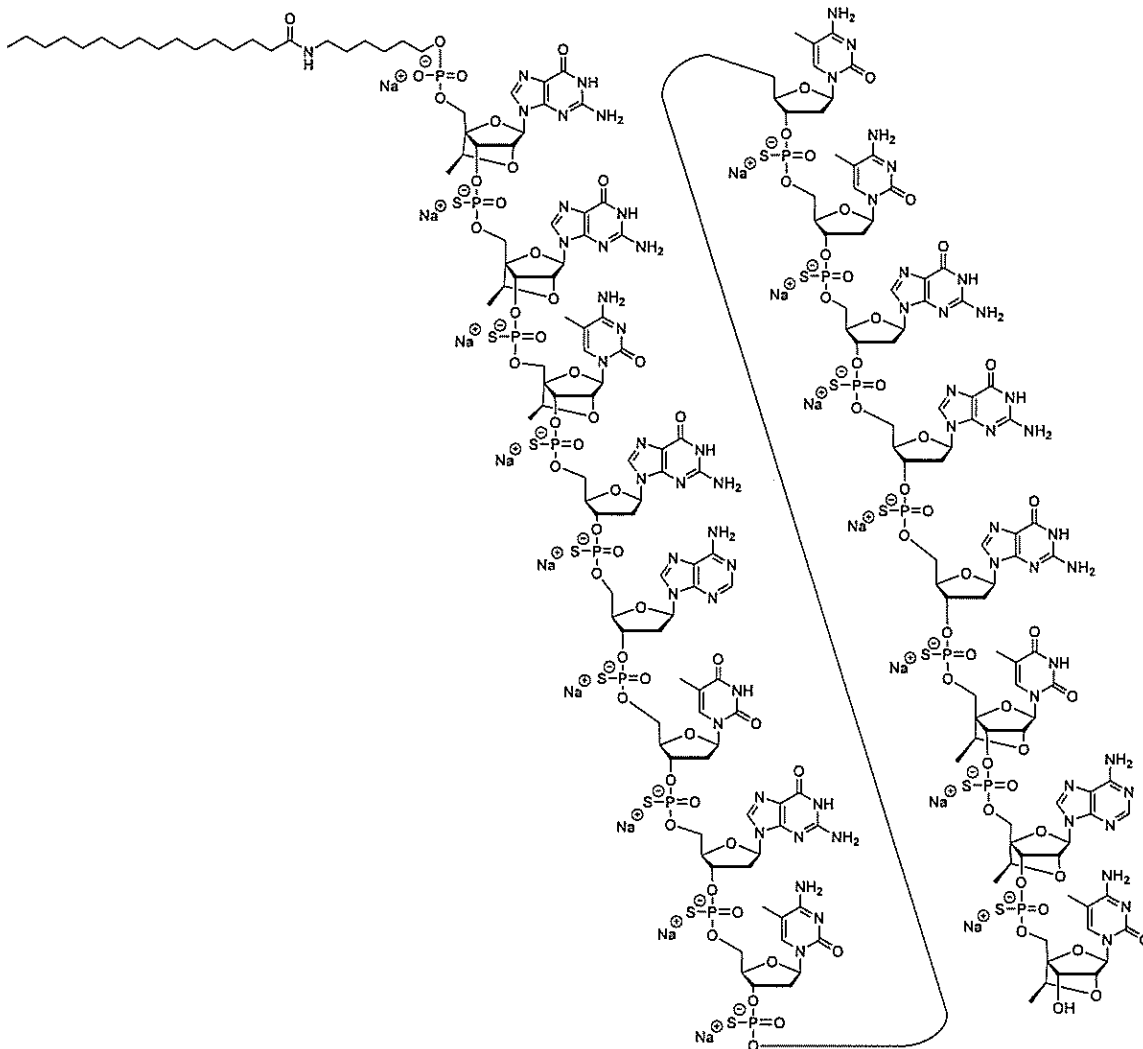
実施形態 53. 以下の化学構造に従うオリゴマー化合物。

## 【0153】

40

50

## 【化 3】



10

20

30

## 【0154】

実施形態54．以下の化学表記に従う修飾オリゴヌクレオチド及びコンジュゲート基を含むオリゴマー化合物：(6-パルミタミドヘキシル) - G<sub>k</sub>s G<sub>k</sub>s<sup>m</sup>C<sub>k</sub>s G<sub>d</sub>s A<sub>d</sub>s T<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s<sup>m</sup>C<sub>d</sub>s<sup>m</sup>C<sub>d</sub>s<sup>m</sup>C<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s G<sub>d</sub>s T<sub>k</sub>s A<sub>k</sub>s<sup>m</sup>C<sub>k</sub> (配列番号248)、ここで、

A = アデニン核酸塩基、

<sup>m</sup>C = 5-メチルシトシン核酸塩基、

G = グアニン核酸塩基、

T = チミン核酸塩基、

k = c E t 糖部分、

d = 2' - β - D - デオキシリボシル糖部分、及び

s = ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

40

## 【0155】

実施形態55．実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物のキラル濃縮集団であって、特定の立体化学的配置を有する少なくとも1つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、前記集団。

## 【0156】

実施形態56．(S<sub>p</sub>)配置を有する少なくとも1つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、実施形態55に記載のキラル濃縮集団。

50

## 【0157】

実施形態57. (Rp)配置を有する少なくとも1つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、実施形態55に記載のキラル濃縮集団。

## 【0158】

実施形態58. 各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において特定の独立して選択される立体化学的配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、実施形態55に記載のキラル濃縮集団。

## 【0159】

実施形態59. 各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Sp)配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて、または各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Rp)配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、実施形態55に記載のキラル濃縮集団。

10

## 【0160】

実施形態60. 1つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Rp)配置を有し、残りのホスホロチオエートヌクレオシド間結合の各々において (Sp)配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、実施形態55に記載のキラル濃縮集団。

## 【0161】

実施形態61. 5'から3'の方向に、Sp配置、Sp配置、及びRp配置で少なくとも3つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、実施形態55に記載のキラル濃縮集団。

20

## 【0162】

実施形態62. 実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団であって、前記修飾オリゴヌクレオチドのホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべてがステレオランダムである、前記集団。

## 【0163】

実施形態63. 第一のオリゴマー化合物、及び第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二重鎖であって、前記第一のオリゴマー化合物が、実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物である、前記オリゴマー二重鎖。

30

## 【0164】

実施形態64. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、12～50個の連結したヌクレオシドからなり、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である少なくとも12個の核酸塩基の相補的領域を含む、実施形態63に記載のオリゴマー二重鎖。

## 【0165】

実施形態65. 以下を含むオリゴマー二重鎖：

19～30個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、または23個の連続する核酸塩基を含む、前記第一のオリゴマー化合物、及び

40

15～30個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である少なくとも12個の核酸塩基の相補的領域を含む、前記第二のオリゴマー化合物。

## 【0166】

50

実施形態 66. 以下を含むオリゴマー二重鎖：

19～30個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、または23個の連続する核酸塩基を含む、前記第一のオリゴマー化合物、及び

15～30個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1242～1307、1309、1474～1637、または1639のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、または21個の連続する核酸塩基を含み、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である、前記第二のオリゴマー化合物。

10

【0167】

実施形態 67. 以下を含むオリゴマー二重鎖：

23個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの核酸塩基配列を含む、前記第一のオリゴマー化合物、及び

20

21個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1242～1307、1309、1474～1637、または1639のいずれかの核酸塩基配列を含み、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である、前記第二のオリゴマー化合物。

【0168】

実施形態 68. 前記第一のオリゴマー化合物の修飾オリゴヌクレオチドが、5'-安定化リン酸基を含む、実施形態 63～67のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

30

【0169】

実施形態 69. 前記 5'-安定化リン酸基が、シクロプロピルホスホネートまたはビニルホスホネートを含む、実施形態 68に記載のオリゴマー二重鎖。

【0170】

実施形態 70. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、実施形態 63～69のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0171】

実施形態 71. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの修飾糖部分が、二環式糖部分を含む、実施形態 70に記載のオリゴマー二重鎖。

40

【0172】

実施形態 72. 前記二環式糖部分が、 $-O-CH_2-$ 及び $-O-CH(CH_3)-$ から選択される2'-4'架橋を含む、実施形態 71に記載のオリゴマー二重鎖。

【0173】

実施形態 73. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの修飾糖部分が、非二環式修飾糖部分を含む、実施形態 70に記載のオリゴマー二重鎖。

【0174】

実施形態 74. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの非二環式修飾糖部分が、2'-OMe糖部分または2'-F糖部分である、実施形態 73に記載のオリゴマー二重鎖。

【0175】

50

実施形態 75. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのヌクレオシドが、糖サロゲートを含む、実施形態 63～74 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0176】

実施形態 76. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、実施形態 63～75 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0177】

実施形態 77. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、実施形態 76 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0178】

実施形態 78. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、独立して、ホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合から選択される、実施形態 76 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0179】

実施形態 79. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、実施形態 63～78 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0180】

実施形態 80. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの修飾糖部分が、二環式糖部分を含む、実施形態 79 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0181】

実施形態 81. 前記二環式糖部分が、 $-O-CH_2-$  及び  $-O-CH(CH_3)-$  から選択される 2' - 4' 架橋を含む、実施形態 80 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0182】

実施形態 82. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの修飾糖部分が、非二環式修飾糖部分を含む、実施形態 79 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0183】

実施形態 83. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの非二環式修飾糖部分が、2' - O Me 糖部分または 2' - F 糖部分である、実施形態 82 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0184】

実施形態 84. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのヌクレオシドが、糖サロゲートを含む、実施形態 63～83 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0185】

実施形態 85. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、実施形態 63～84 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0186】

実施形態 86. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、実施形態 85 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0187】

実施形態 87. 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、独立して、ホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合から選択される、実施形態 85 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0188】

実施形態 88. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフが、 $ssoooooooooooooooooooooooo$  であり、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフが、 $ssoooooooooooooooooooooooo$  であり、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表し、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す、実施形態 63～87 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0189】

10

20

30

40

50

実施形態 89. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドが、5' - y f y f y f y f y f y f y f y f y f y y - 3' の糖モチーフを有し、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、5' - f y f y f y f y f y f y f y f y f y f y f - 3' の糖モチーフを有し、各「y」は、2' - OMe 糖部分を表し、各「f」は、2' - F 糖部分を表す、実施形態 63 ~ 88 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0190】

実施形態 90. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチド及び前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して、少なくとも 1 つの修飾核酸塩基を含む、実施形態 63 ~ 89 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0191】

実施形態 91. 前記少なくとも 1 つの修飾核酸塩基が、5-メチルシトシンである、実施形態 90 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0192】

実施形態 92. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの 1 ~ 4 個の最も 3' 側のヌクレオシドが、オーバーハングヌクレオシドである、実施形態 63 ~ 91 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0193】

実施形態 93. 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドの 5' 末端において平滑末端である、実施形態 63 ~ 92 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0194】

実施形態 94. 前記第二のオリゴマー化合物が、コンジュゲート部分及びコンジュゲートリンカーを含むコンジュゲート基を含む、実施形態 63 ~ 93 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0195】

実施形態 95. 前記コンジュゲートリンカーが単結合からなる、実施形態 94 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0196】

実施形態 96. 前記コンジュゲートリンカーが切断可能である、実施形態 94 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0197】

実施形態 97. 前記コンジュゲートリンカーが、1 ~ 3 個のリンカーヌクレオシドを含む、実施形態 94 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0198】

実施形態 98. 前記コンジュゲート基が、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの 5' 末端に結合される、実施形態 94 ~ 97 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0199】

実施形態 99. 前記コンジュゲート基が、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの 3' 末端に結合される、実施形態 94 ~ 97 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0200】

実施形態 100. 前記コンジュゲート基が、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドの内部の位置におけるリボシル糖部分の 2' 位を介して結合される、実施形態 94 ~ 97 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0201】

実施形態 101. 前記コンジュゲート基が、C22 アルキル、C20 アルキル、C16 アルキル、C10 アルキル、C21 アルキル、C19 アルキル、C18 アルキル、C15 アルキル、C14 アルキル、C13 アルキル、C12 アルキル、C11 アルキル、C9 アルキル、C8 アルキル、C7 アルキル、C6 アルキル、C5 アルキル、C22 アルケニル、C20 アルケニル、C16 アルケニル、C10 アルケニル、C21 アルケニル、C19 アルケニル、C18 アルケニル、C15 アルケニル、C14 アルケニル、C13 アルケニル、C12 アルケニル、C11 アルケニル、C9 アルケニル、C8 アルケニル、C7 アル

10

20

30

40

50

ケニル、C 6 アルケニル、または C 5 アルケニルを含む、実施形態 9 4 ~ 1 0 1 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 0 2】

実施形態 1 0 2 . 前記コンジュゲート部分が、6 - パルミタミドヘキシルコンジュゲート部分である、実施形態 9 4 ~ 1 0 1 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 0 3】

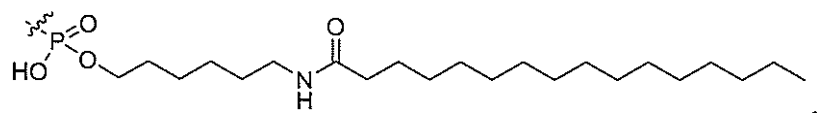
実施形態 1 0 3 . 前記コンジュゲートリンカーが、ホスホジエステルリンカーである、実施形態 9 4 または 9 6 ~ 1 0 2 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 0 4】

実施形態 1 0 4 . 前記コンジュゲート基が、以下の構造を有する、実施形態 9 4 または 9 6 ~ 1 0 0 のいずれか 1 つに記載のオリゴマー二重鎖：

【0 2 0 5】

【化 4】



【0 2 0 6】

実施形態 1 0 5 . 前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、実施形態 9 4 ~ 1 0 4 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 0 7】

実施形態 1 0 6 . 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、末端基を含む、実施形態 6 3 ~ 1 0 5 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 0 8】

実施形態 1 0 7 . 前記末端基が脱塩基糖部分である、実施形態 1 0 6 に記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 0 9】

実施形態 1 0 8 . 前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、1 2 ~ 2 0、1 2 ~ 2 5、1 2 ~ 3 0、1 2 ~ 5 0、1 3 ~ 2 0、1 3 ~ 2 5、1 3 ~ 3 0、1 3 ~ 5 0、1 4 ~ 2 0、1 4 ~ 2 5、1 4 ~ 3 0、1 4 ~ 5 0、1 5 ~ 2 0、1 5 ~ 2 5、1 5 ~ 3 0、1 5 ~ 5 0、1 6 ~ 1 8、1 6 ~ 2 0、1 6 ~ 2 5、1 6 ~ 3 0、1 6 ~ 5 0、1 7 ~ 2 0、1 7 ~ 2 5、1 7 ~ 3 0、1 7 ~ 5 0、1 8 ~ 2 0、1 8 ~ 2 5、1 8 ~ 3 0、1 8 ~ 5 0、1 9 ~ 2 0、1 9 ~ 2 5、1 9 ~ 3 0、1 9 ~ 5 0、2 0 ~ 2 5、2 0 ~ 3 0、2 0 ~ 5 0、2 1 ~ 2 5、2 1 ~ 3 0、2 1 ~ 5 0、2 2 ~ 2 5、2 2 ~ 3 0、2 2 ~ 5 0、2 3 ~ 2 5、2 3 ~ 3 0、または 2 3 ~ 5 0 個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態 6 3 ~ 1 0 7 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 1 0】

実施形態 1 0 9 . 前記第一の修飾オリゴヌクレオチドが、2 3 個の連結したヌクレオシドからなり、前記第二の修飾オリゴヌクレオチドが、2 1 個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態 6 3 ~ 6 6 または 6 8 ~ 1 0 8 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖。

【0 2 1 1】

実施形態 1 1 0 . アンチセンス化合物を含むかまたはそれからなるアンチセンス剤であって、前記アンチセンス化合物が、実施形態 1 ~ 5 4 のいずれかに記載のオリゴマー化合物である、前記アンチセンス剤。

【0 2 1 2】

実施形態 1 1 1 . 実施形態 6 3 ~ 1 0 9 のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖である、アンチセンス剤。

【0 2 1 3】

実施形態 1 1 2 . 実施形態 1 1 0 または実施形態 1 1 1 に記載のアンチセンス剤であっ

10

20

30

40

50

て、

i) RNase Hの活性化によりDUX4核酸の量を低減することが可能なRNase H剤、または

ii) RISC/Ago2の活性化によりDUX4核酸の量を低減することが可能なRNAi剤

である、前記アンチセンス剤。

【0214】

実施形態113．コンジュゲート基を含む、実施形態110～112のいずれかに記載のアンチセンス剤であって、前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、前記アンチセンス剤。

10

【0215】

実施形態114．実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、または実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、及び医薬的に許容される希釈剤を含む医薬組成物。

【0216】

実施形態115．前記医薬的に許容される希釈剤が、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)である、実施形態114に記載の医薬組成物。

【0217】

実施形態116．前記オリゴマー化合物及びPBSから本質的になる、実施形態115に記載の医薬組成物。

20

【0218】

実施形態117．前記オリゴマー化合物の集団及びPBSから本質的になる、実施形態115に記載の医薬組成物。

【0219】

実施形態118．前記オリゴマー二重鎖または前記アンチセンス剤及びPBSから本質的になる、実施形態115に記載の医薬組成物。

【0220】

実施形態119．実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または実施形態114～118のいずれかに記載の医薬組成物を、対象に投与することを含む方法。

30

【0221】

実施形態120．DUX4に関連する疾患または障害の治療方法であって、治療有効量の実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または実施形態114～118のいずれかに記載の医薬組成物を、DUX4に関連する疾患または障害を有するまたはそれを発症するリスクがある対象に投与し、それにより、前記DUX4に関連する疾患または障害を治療することを含む、前記方法。

40

【0222】

実施形態121．前記DUX4に関連する疾患または障害が、筋ジストロフィーである、実施形態120に記載の方法。

【0223】

実施形態122．前記DUX4に関連する疾患または障害が、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)である、実施形態120に記載の方法。

【0224】

実施形態123．前記DUX4に関連する疾患または障害の少なくとも1つの症状または特徴が改善される、実施形態120～122のいずれかに記載の方法。

50

## 【0225】

実施形態124．前記症状または特徴が、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下または筋肉消耗である、実施形態123に記載の方法。

## 【0226】

実施形態125．実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または実施形態114～118のいずれかに記載の医薬組成物の投与により、前記対象において、筋力低下または筋肉消耗の発症または進行が減少または遅延する、実施形態124に記載の方法。

10

## 【0227】

実施形態126．実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または実施形態114～118のいずれかに記載の医薬組成物が、全身投与される、実施形態119～125のいずれかに記載の方法。

## 【0228】

実施形態127．前記対象がヒトである、実施形態119～126のいずれかに記載の方法。

## 【0229】

実施形態128．細胞におけるDUX4の発現を低減する方法であって、前記細胞を、実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または実施形態114～118のいずれかに記載の医薬組成物と接触させることを含む、前記方法。

20

## 【0230】

実施形態129．前記細胞が筋細胞である、実施形態128に記載の方法。

## 【0231】

実施形態130．前記細胞がヒト細胞である、実施形態128または実施形態129に記載の方法。

30

## 【0232】

実施形態131．実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または実施形態114～118のいずれかに記載の医薬組成物の、DUX4に関連する疾患または障害を治療するための使用。

## 【0233】

実施形態132．実施形態1～54のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態55～62のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団、実施形態63～109のいずれかに記載のオリゴマー二重鎖、実施形態110～113のいずれかに記載のアンチセンス剤、または実施形態114～118のいずれかに記載の医薬組成物の、DUX4に関連する疾患または障害を治療するための薬剤の製造における使用。

40

## 【0234】

実施形態133．前記DUX4に関連する疾患または障害がFSHDである、実施形態131または実施形態132に記載の使用。

## 【0235】

特定のオリゴマー剤及びオリゴマー化合物

ある特定の実施形態では、DUX4核酸を標的とするオリゴマー剤を提供する。ある特定の実施形態では、該DUX4核酸は、各々が参照により全体として組み込まれる配列番号1 (GENBANKアクセッション番号NC\_000004.12、ヌクレオチド19

50

0171001から190187000まで切断されている)、配列番号2 (GENBANKアクセッション番号NM\_001306068.2)、配列番号3 (GENBANKアクセッション番号FJ439133.1)、または配列番号4 (GENBANKアクセッション番号NM\_001293798.2)に示される配列を有する。ある特定の実施形態では、該オリゴマー剤は、一本鎖オリゴマー化合物である。ある特定の実施形態では、該オリゴマー剤は、オリゴマー二重鎖である。

【0236】

ある特定の実施形態では、12～50個の連結したヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を提供し、該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、DUX4 RNAの等長部分に少なくとも80%相補的であり、該修飾オリゴヌクレオチドは、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む。ある特定の実施形態では、該DUX4核酸は、配列番号1、2、3、または4の核酸塩基配列を有する。

10

【0237】

ある特定の実施形態では、12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号20～172のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または20個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を提供する。

【0238】

ある特定の実施形態では、12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号173～1171のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、または16個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を提供する。

20

【0239】

ある特定の実施形態では、12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、または23個の核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を提供する。

30

【0240】

本明細書に提供するオリゴマー化合物のいずれかにおいて、該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、DUX4核酸の等長部分に少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的である可能性があり、該DUX4核酸は、配列番号1～4のいずれかの核酸塩基配列を有する。

【0241】

本明細書に提供するオリゴマー化合物のいずれかにおいて、該修飾オリゴヌクレオチドは、12～20、12～25、12～30、12～50、13～20、13～25、13～30、13～50、14～20、14～25、14～30、14～50、15～20、15～25、15～30、15～50、16～18、16～20、16～25、16～30、16～50、17～20、17～25、17～30、17～50、18～20、18～25、18～30、18～50、19～20、19～25、19～30、19～50、20～25、20～30、20～50、21～25、21～30、21～50、22～25、22～30、22～50、23～25、23～30、または23～50個の連結したヌクレオシドからなる。

40

【0242】

本明細書に提供するオリゴマー化合物のいずれかにおいて、該修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含み得る。ある特定の実施形態では、該修飾糖部分は、二環式糖部分、例えば、 $-O-CH_2-$ 及び $-O-CH(CH_3)-$ か

50

ら選択される2'-4'架橋を含む。ある特定の実施形態では、該修飾糖部分は、非二環式糖部分、例えば、2'-MOE糖部分、cEt糖部分、2'-OMe糖部分、または2'-F糖部分を含む。

#### 【0243】

本明細書に提供するオリゴマー化合物のいずれかにおいて、該修飾オリゴヌクレオチド化合物の少なくとも1つのヌクレオシドは、糖サロゲートを含み得る。

#### 【0244】

本明細書に提供するオリゴマー化合物のいずれかにおいて、該修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、修飾ヌクレオシド間結合、例えば、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含み得る。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、修飾ヌクレオシド間結合であり得るか、または該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり得る。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合であり得る。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、独立して、ホスホジエステルまたはホスホロチオエートヌクレオシド間結合から選択され得る。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、または少なくとも6個のヌクレオシド間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合であり得る。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または20個のヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり得る。

#### 【0245】

本明細書に提供するオリゴマー化合物のいずれかにおいて、該修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの核酸塩基は、修飾核酸塩基、例えば、5-メチルシトシンであり得る。ある特定の実施形態では、各シトシンは、5-メチルシトシンである。

#### 【0246】

本明細書に提供するオリゴマー化合物のいずれかにおいて、該修飾オリゴヌクレオチドは、5~12個の連続する2'-デオキシヌクレオシドからなるデオキシ領域を含み得る。ある特定の実施形態では、該デオキシ領域の各ヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、該デオキシ領域は、7、8、9、10、または7~10個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、該デオキシ領域に直接隣接する各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、該デオキシ領域は、5'側に1~6個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、及び3'側に1~6個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域が配置され、該5'領域の最も3'側のヌクレオシドは、修飾糖部分を含み、かつ該3'領域の最も5'側のヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、該3'領域の各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、該5'領域の各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。

#### 【0247】

ある特定の実施形態では、ある化合物は、16~50個の連結した核酸塩基からなる修飾オリゴヌクレオチドであって、配列番号20~172のいずれか1つに列挙される核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含むかまたはそれからなり、ここで、該修飾オリゴヌクレオチドは、5個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び5個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域を有し、該5'領域ヌクレオシドの各々及び該3'領域ヌクレオシドの各々は、2'-MOE糖部分を含み、該中央領域ヌクレオシドの各々は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含み、ここで、各シトシンは、5-メチルシトシンである。ある特定の実施形態では、該修

飾オリゴヌクレオチドは、15～30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の  
実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドは、20個の連結したヌクレオシドからなる。

【0248】

ある特定の実施形態では、ある化合物は、16～50個の連結した核酸塩基からなる修  
飾オリゴヌクレオチドであって、配列番号173～1171のいずれか1つに列挙される  
核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含むかまたはそれか  
らなり、ここで、該修飾オリゴヌクレオチドは、

3個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、

10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び

3個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域を有し、

該5'領域ヌクレオシドの各々及び該3'領域ヌクレオシドの各々は、2'-cEt糖部分  
を含み、該中央領域ヌクレオシドの各々は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含  
み、ここで、各シトシンは、5-メチルシトシンである。ある特定の実施形態では、該修  
飾オリゴヌクレオチドは、15～30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の  
実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドは、16個の連結したヌクレオシドからなる。

【0249】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、コンジュゲート基を含む。ある特定の  
実施形態では、該コンジュゲート基は、コンジュゲートリンカー及びコンジュゲート部分  
を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは単結合からなるか、該コ  
ンジュゲートリンカーは切断可能であるか、該コンジュゲートリンカーは1～3個のリン  
カーヌクレオシドを含むか、該コンジュゲートリンカーはリンカーヌクレオシドを含まな  
いか、該コンジュゲート基は、該修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で該修飾オリゴヌク  
レオチドに結合されるか、または該コンジュゲート基は、該修飾オリゴヌクレオチドの3  
'末端で該修飾オリゴヌクレオチドに結合される。

【0250】

ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、トランスフェリン受容体(TfR)  
、別名TfR1及びCD71に対して親和性を有する細胞標的化部分を含む。ある特定の  
実施形態では、該コンジュゲート基は、抗TfR1抗体またはその断片を含む。ある特定  
の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なタンパク質ま  
たはペプチドを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合  
することが可能なアプタマーを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、C  
22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C  
19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C  
12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アル  
キル、C5アルキル、C22アルケニル、C20アルケニル、C16アルケニル、C10  
アルケニル、C21アルケニル、C19アルケニル、C18アルケニル、C15アルケニ  
ル、C14アルケニル、C13アルケニル、C12アルケニル、C11アルケニル、C9  
アルケニル、C8アルケニル、C7アルケニル、C6アルケニル、またはC5アルケニル  
のいずれかから選択され得る。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、そのアル  
キル鎖が1つ以上の不飽和結合を有するC22アルキル、C20アルキル、C16アルキ  
ル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキ  
ル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル  
、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、及びC5アルキルのいずれかから選択さ  
れ得る。

【0251】

ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、以下の構造を有する：

【0252】

10

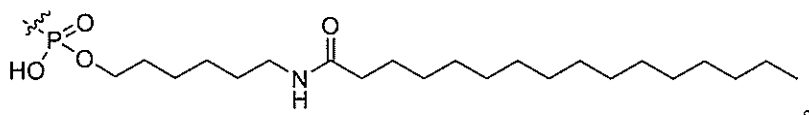
20

30

40

50

## 【化 5】



## 【0253】

特定のオリゴマー二重鎖

ある特定の実施形態は、第一のオリゴマー化合物及び第二のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二重鎖を対象とする。

10

## 【0254】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

12～50個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号20～1171のいずれかの核酸塩基配列内の等長部分に少なくとも80%相補的であるもの、及び

12～50個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である少なくとも8個の核酸塩基の相補的領域を含むもの。

20

## 【0255】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

12～50個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号20～1171のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、または少なくとも16個の連続する核酸塩基を含み、各チミンがウラシルで置き換えられているもの、及び

12～50個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である少なくとも8個の核酸塩基の相補的領域を含むもの。

30

## 【0256】

ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。

ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

## 【0257】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

16～50個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号20～1171のいずれかの核酸塩基配列を含み、各チミンがウラシルで置き換えられているもの、及び

16～50個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である少なくとも16個の核酸塩基の相補的領域を含むもの。

40

## 【0258】

ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。

50

ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

【0259】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

19～30個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、または23個の連続する核酸塩基を含むもの、及び

10

15～30個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である少なくとも8個の核酸塩基の相補的領域を含むもの。

【0260】

ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。

ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

20

【0261】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

19～30個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1176～1241、1308、1310～1473、または1638のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、または23個の連続する核酸塩基を含むもの、及び

30

15～30個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1242～1307、1309、1474～1637、または1639のいずれかの核酸塩基配列の少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、または21個の連続する核酸塩基を含み、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的であるもの。

40

【0262】

ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。

ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

【0263】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

23個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物であって、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1

50

1 7 6 ~ 1 2 4 1、1 3 0 8、1 3 1 0 ~ 1 4 7 3、または 1 6 3 8 のいずれかの核酸塩基配列を含むもの、及び

2 1 個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物であって、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1 2 4 2 ~ 1 3 0 7、1 3 0 9、1 4 7 4 ~ 1 6 3 7、または 1 6 3 9 のいずれかの核酸塩基配列を含み、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも 9 0 % 相補的であるもの。

【0 2 6 4】

ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

10

【0 2 6 5】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、1 9 ~ 3 0 個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物、及び 1 5 ~ 3 0 個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物を含み、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列及び該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は各々、次の配列番号 1 1 7 6 ~ 1 6 3 9 に列挙される核酸塩基配列の対のいずれかの少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 1 0、少なくとも 1 1、少なくとも 1 2、少なくとも 1 3、少なくとも 1 4、少なくとも 1 5、少なくとも 1 6、少なくとも 1 7、少なくとも 1 8、少なくとも 1 9、少なくとも 2 0、少なくとも 2 1、少なくとも 2 2、または少なくとも 2 3 個の連続する核酸塩基を含み、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該対に列挙される第一の配列番号の核酸塩基配列を含み、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該対に列挙される第二の配列番号の核酸塩基配列を含む。ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

20

30

【0 2 6 6】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、1 9 ~ 3 0 個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物、及び 1 5 ~ 3 0 個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物を含み、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、次の配列番号 1 1 7 6 ~ 1 6 3 9 に列挙される核酸塩基配列の対のいずれかを含み、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該対に列挙される第一の配列番号の核酸塩基配列を含み、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該対に列挙される第二の配列番号の核酸塩基配列を含む。ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

40

【0 2 6 7】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、2 3 個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物、及び 2 1 個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物を含み、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、次の配列番号 1 1 7 6 ~ 1 6 3 9 に列挙される核酸塩基配列の対のいずれかからなり、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該対に列挙される第一の配列番号

50

の核酸塩基配列を含み、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該対に列挙される第二の配列番号の核酸塩基配列を含む。ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

#### 【0268】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含み得る。適切な修飾糖部分の例としては、二環式糖部分、例えば、 $-O-CH_2-$ 及び $-O-CH(CH_3)-$ から選択される2'-4'架橋、ならびに非二環式糖部分、例えば、2'-MOE糖部分、2'-F糖部分、2'-OMe糖部分、または2'-NMA糖部分が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドの少なくとも80%、少なくとも90%、または100%は、2'-F及び2'-OMeから選択される修飾糖部分を含む。

#### 【0269】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、糖サロゲートを含み得る。適切な糖サロゲートの例としては、モルホリノ、ペプチド核酸(PNA)、グリコール核酸(GNA)、及びアンロックド核酸(UNA)が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、糖サロゲートを含み、それはGNAであり得る。

#### 【0270】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、修飾ヌクレオシド間結合を含み得る。ある特定の実施形態では、該修飾ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端及び／または3'末端から一番目、二番目、または三番目のヌクレオシド間結合のうちの少なくとも1つは、ホスホロチオエート結合を含む。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端及び／または3'末端から一番目、二番目、または三番目のヌクレオシド間結合のうちの少なくとも1つは、ホスホロチオエート結合を含む。

#### 【0271】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を含み得る。

#### 【0272】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、独立して、ホスホジエステルヌクレオシド間結合またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合から選択され得る。

#### 【0273】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフは、 $ssoooooooooooooooooooooooo$ である可能性があり、該第二の修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフは、 $ssoooooooooooooooooooooooo$ である可能性があり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表し、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す。

#### 【0274】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの核酸塩基は、修飾核酸塩基であり得る。ある特定の実施形態では、該修飾核酸塩基は、5-メチルシトシンである。

【0275】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、最も5'側のヌクレオシドの5'位に結合した安定化リン酸基を含み得る。ある特定の実施形態では、該安定化リン酸基は、シクロプロピルホスホネートまたは(E)-ビニルホスホネートを含む。

【0276】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、コンジュゲート基を含み得る。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、コンジュゲートリンカー及びコンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドに該修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドに該修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、N-アセチルガラクトサミンを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、トランスフェリン受容体(TfR)、別名TfR1及びCD71に対して親和性を有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、抗TfR1抗体またはその断片を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なタンパク質またはペプチドを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なアダプターを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、C22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、C5アルキル、C22アルケニル、C20アルケニル、C16アルケニル、C10アルケニル、C21アルケニル、C19アルケニル、C18アルケニル、C15アルケニル、C14アルケニル、C13アルケニル、C12アルケニル、C11アルケニル、C9アルケニル、C8アルケニル、C7アルケニル、C6アルケニル、またはC5アルケニルのいずれかから選択され得る。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、そのアルキル鎖が1つ以上の不飽和結合を有するC22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、及びC5アルキルのいずれかから選択され得る。

【0277】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、コンジュゲート基を含み得る。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、コンジュゲートリンカー及びコンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第二の修飾オリゴヌクレオチドに該修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第二の修飾オリゴヌクレオチドに該修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、N-アセチルガラクトサミンを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、トランスフェリン受容体(TfR)、別名TfR1及びCD71に対して親和性を有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、抗TfR1抗体またはその断片を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なタンパク質またはペプチドを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なアダプターを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、C22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C

10

20

30

40

50

1 8 アルキル、C 1 5 アルキル、C 1 4 アルキル、C 1 3 アルキル、C 1 2 アルキル、C 1 1 アルキル、C 9 アルキル、C 8 アルキル、C 7 アルキル、C 6 アルキル、C 5 アルキル、C 2 2 アルケニル、C 2 0 アルケニル、C 1 6 アルケニル、C 1 0 アルケニル、C 2 1 アルケニル、C 1 9 アルケニル、C 1 8 アルケニル、C 1 5 アルケニル、C 1 4 アルケニル、C 1 3 アルケニル、C 1 2 アルケニル、C 1 1 アルケニル、C 9 アルケニル、C 8 アルケニル、C 7 アルケニル、C 6 アルケニル、またはC 5 アルケニルのいずれかから選択され得る。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、そのアルキル鎖が1つ以上の不飽和結合を有するC 2 2 アルキル、C 2 0 アルキル、C 1 6 アルキル、C 1 0 アルキル、C 2 1 アルキル、C 1 9 アルキル、C 1 8 アルキル、C 1 5 アルキル、C 1 4 アルキル、C 1 3 アルキル、C 1 2 アルキル、C 1 1 アルキル、C 9 アルキル、C 8 アルキル、C 7 アルキル、C 6 アルキル、及びC 5 アルキルのいずれかから選択され得る。

10

#### 【0278】

ある特定の実施形態では、アンチセンス剤は、アンチセンス化合物を含み、これは、本明細書に記載のオリゴマー化合物またはオリゴマー二重鎖を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のオリゴマー化合物またはオリゴマー二重鎖を含み得るアンチセンス剤は、RISC / Ago 2 の活性化によりDUX 4 核酸の量を低減することが可能なRNAi 剤である。

#### 【0279】

ある特定の実施形態は、2つ以上のオリゴマー二重鎖を含むオリゴマー剤を提供する。ある特定の実施形態では、オリゴマー剤は、本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかの2つ以上を含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー剤は、2つ以上の同じオリゴマー二重鎖を含み、これは、本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかであり得る。ある特定の実施形態では、該2つ以上のオリゴマー二重鎖は、合わせて結合される。ある特定の実施形態では、該2つ以上のオリゴマー二重鎖は、合わせて共有結合される。ある特定の実施形態では、該2つ以上のオリゴマー二重鎖の第二の修飾オリゴヌクレオチドは、合わせて共有結合される。ある特定の実施形態では、該2つ以上のオリゴマー二重鎖の第二の修飾オリゴヌクレオチドは、合わせてそれらの3' 末端で共有結合される。ある特定の実施形態では、該2つ以上のオリゴマー二重鎖は、グリコールリンカー、例えば、テトラエチレングリコールリンカーによって合わせて共有結合される。ある特定の化合物は、例えば、Alterman, et al., Nature Biotech., 37: 844-894, 2019 に記載されている。

20

30

#### 【0280】

##### I. 特定のオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、連結したヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を本明細書に提供する。オリゴヌクレオチドは、非修飾オリゴヌクレオチド(RNA またはDNA) の場合もあれば、修飾オリゴヌクレオチドの場合もある。修飾オリゴヌクレオチドは、非修飾RNA またはDNA に対して少なくとも1つの修飾を含む。すなわち、修飾オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド(修飾糖部分及び／または修飾核酸塩基を含む) 及び／または少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合を含む。修飾オリゴヌクレオチドでの使用に適切なある特定の修飾ヌクレオシド及び修飾ヌクレオシド間結合を以下に記載する。

40

#### 【0281】

##### A. 特定の修飾ヌクレオシド

修飾ヌクレオシドは、修飾糖部分もしくは修飾核酸塩基、または修飾糖部分及び修飾核酸塩基の両方を含む。ある特定の実施形態では、以下の修飾糖部分及び／または以下の修飾核酸塩基を含む修飾ヌクレオシドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドに組み込まれ得る。

#### 【0282】

##### 1. 特定の糖部分

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、非二環式修飾糖部分である。ある特定の実施

50

形態では、修飾糖部分は、二環式または三環式糖部分である。ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、糖サロゲートである。かかる糖サロゲートは、他のタイプの修飾糖部分のものに対応する1つ以上の置換を含み得る。

#### 【0283】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、2'、3'、4'、及び／または5'位での置換基が挙げられるがこれらに限定されない1つ以上の非環式置換基を含む非二環式修飾フラノシル糖部分である。ある特定の実施形態では、該フラノシル糖部分は、リボシル糖部分である。ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分の1つ以上の非環式置換基は分岐している。

#### 【0284】

ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分は、2'位に置換基を含む。該修飾糖部分の2'位に適切な置換基の例としては、 $-F$ 、 $-OCH_3$ （「OMe」または「O-メチル」）、及び $-O(CH_2)_2OCH_3$ （「MOE」）が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、2'-置換基は、ハロ、アリル、アミノ、アジド、 $SH$ 、 $CN$ 、 $OCN$ 、 $CF_3$ 、 $OCF_3$ 、 $O-C_1-C_{10}$ アルコキシ、 $O-C_1-C_{10}$ 置換アルコキシ、 $O-C_1-C_{10}$ アルキル、 $O-C_1-C_{10}$ 置換アルキル、 $S$ -アルキル、 $N(R_m)$ -アルキル、 $O$ -アルケニル、 $S$ -アルケニル、 $N(R_m)$ -アルケニル、 $O$ -アルキニル、 $S$ -アルキニル、 $N(R_m)$ -アルキニル、 $O$ -アルキレニル- $O$ -アルキル、アルキニル、アルカリル、アラルキル、 $O$ -アルカリル、 $O$ -アラルキル、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2ON(R_m)(R_n)$ または $OCH_2C(=O)-N(R_m)(R_n)$ の中から選択され、式中、各 $R_m$ 及び $R_n$ は、独立して、 $H$ 、アミノ保護基、または置換もしくは非置換の $C_1-C_{10}$ アルキル、 $-O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ （「DMAOE」）、2'- $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ （「DMAEOE」）、ならびにCook et al., U. S. 6, 531, 584、Cook et al., U. S. 5, 859, 221、及びCook et al., U. S. 6, 005, 087に記載されている2'-置換基である。これらの2'-置換基のある特定の実施形態は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ( $NO_2$ )、チオール、チオアルコキシ、チオアルキル、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルの中から独立して選択される1つ以上の置換基でさらに置換され得る。

#### 【0285】

ある特定の実施形態では、2'-置換非二環式修飾ヌクレオシドは、 $F$ 、 $NH_2$ 、 $N_3$ 、 $OCF_3$ 、 $OCH_3$ 、 $O(CH_2)_3NH_2$ 、 $CH_2CH=CH_2$ 、 $OCH_2CH=CH_2$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2ON(R_m)(R_n)$ 、 $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 、及び $N$ -置換アセトアミド( $OCH_2C(=O)-N(R_m)(R_n)$ )から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含み、式中、 $R_m$ 及び $R_n$ は、独立して、 $H$ 、アミノ保護基、または置換もしくは非置換の $C_1-C_{10}$ アルキルである。

#### 【0286】

ある特定の実施形態では、2'-置換ヌクレオシド非二環式修飾ヌクレオシドは、 $F$ 、 $OCF_3$ 、 $OCH_3$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 、 $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 、 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ （「DMAOE」）、 $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ （「DMAEOE」）及び $OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$ （「NMA」）から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含む。

#### 【0287】

ある特定の実施形態では、2'-置換非二環式修飾ヌクレオシドは、 $F$ 、 $OCH_3$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 、 $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 、及び $OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$ （「NMA」）から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含む。

## 【0288】

ある特定の実施形態では、2'-置換非二環式修飾ヌクレオシドは、F、 $\text{OCH}_3$ 、及び $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含む。

## 【0289】

ある特定の実施形態では、修飾フラノシル糖部分及びかかる修飾フラノシル糖部分を組み込むヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、2'-デオキシフラノシル糖部分は、天然に存在する $\beta$ -D-デオキシリボシル配置以外に7種の異性体配置をとり得る。かかる修飾糖部分は、例えば、参照により本明細書に組み込まれるWO 2019/157531に記載されている。2'修飾糖部分は、2'-デオキシフラノシル糖部分に対して2'位にさらなる立体中心を有する。従って、かかる糖部分は、合計で16種の異性体配置を有する可能性がある。本明細書に記載の2'修飾糖部分は、別様に明記されない限り、 $\beta$ -D-リボシル異性体配置にある。

10

## 【0290】

ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分は、4'位に置換基を含む。修飾糖部分の4'位に適切な置換基の例としては、アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルキル、及びManoharan et al., WO 2015/106128に記載されているものが挙げられるがこれらに限定されない。

## 【0291】

ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分は、3'位に置換基を含む。修飾糖部分の3'位に適切な置換基の例としては、アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルキル（例えば、メチル、エチル）が挙げられるがこれらに限定されない。

20

## 【0292】

ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分は、5'位に置換基を含む。修飾糖部分の5'位に適切な置換基の例としては、ビニル、アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルキル（例えば、メチル（RまたはS）、エチル）が挙げられるがこれらに限定されない。

## 【0293】

ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分は、例えば、2'-F-5'-メチル糖部分、ならびにMigawa et al., WO 2008/101157及びRajeev et al., US 2013/0203836に記載の、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシドなど、2つ以上の非架橋糖置換基を含む。

30

## 【0294】

天然に存在する核酸では、糖は3'と5'で互いに連結している。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、代替位置、例えば2'位において連結された、または5'から3'に逆に連結した、1つ以上のヌクレオシドもしくは糖部分を含む。例えば、連結が2'位にある場合、2'-置換基は、代わりに3'位にあってもよい。

## 【0295】

ある特定の修飾糖部分は、第二の環を形成して二環式糖部分をもたらすフラノシル環の2つの原子を架橋する置換基を含む。ある特定の実施形態では、該二環式糖部分は、4'フラノース環原子と2'フラノース環原子の間に架橋を含む。かかる4'と2'を架橋する糖置換基の例としては、4'- $\text{CH}_2$ -2'、4'-( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub>-2'、4'-( $\text{CH}_2$ )<sub>3</sub>-2'、4'- $\text{CH}_2\text{O}$ -2'（「LNA」）、4'- $\text{CH}_2\text{S}$ -2'、4'-( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub>-O-2'（「ENA」）、4'- $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -O-2'（「拘束エチル」または「cEt」と称される）、4'- $\text{CH}_2$ -O- $\text{CH}_2$ -2'、4'- $\text{CH}_2\text{N}(\text{R})$ -2'、4'- $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OCH}_3)$ -O-2'（「拘束MOE」または「cMOE」）及びその類似体（例えば、Seth et al., U. S. 7, 399, 845、Bhat et al., U. S. 7, 569, 686、Swayze et al., U. S. 7, 741, 457、及びSwayze et al., U. S. 8, 022, 193参照）、4'-C( $\text{CH}_3$ )( $\text{CH}_3$ )-O-2'及びその類似体（例えば、Seth et al., U. S. 8, 278, 283参照）、4'- $\text{CH}_2$ -N( $\text{OCH}_3$ )-2'及びその類似体（例えば、Prakash et al., U. S. 8, 278, 425参照）、4'

40

50

$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-2'$  (例えば、Allerson et al., U. S. 7, 696, 345 及び Allerson et al., U. S. 8, 124, 745 参照)、 $4'-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{CH}_3)-2'$  (例えば、Zhou, et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134 参照)、 $4'-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{CH}_2)-2'$  及びその類似体 (例えば、Seth et al., U. S. 8, 278, 426 参照)、 $4'-\text{C}(\text{R}_a\text{R}_b)-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$ 、 $4'-\text{C}(\text{R}_b)-\text{O}-\text{N}(\text{R})-2'$ 、 $4'-\text{CH}-\text{O}-\text{N}(\text{R})-2'$ 、及び  $4'-\text{CH}-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$  が挙げられるがこれらに限定されず、式中、各 R、 $\text{R}_a$ 、及び  $\text{R}_b$  は、独立して、H、保護基、または  $\text{C}_1-\text{C}_{12}$  アルキルである (例えば、Imanishi et al., U. S. 7, 427, 672 参照)。

10

#### 【0296】

ある特定の実施形態では、かかる  $4'$  と  $2'$  の架橋は、独立して、 $-\text{[C}(\text{R})(\text{R}_b)]_n-$ 、 $-\text{[C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)]_n-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a)=\text{C}(\text{R}_b)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a)=\text{N}-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}_a)-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{S})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{Si}(\text{R}_a)_2-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_x-$ 、及び  $-\text{N}(\text{R}_a)-$  から選択される 1~4 個の連結基を含み、

式中、

$x$  は、0、1、または 2 であり、

$n$  は、1、2、3、または 4 であり、

各  $\text{R}_a$  及び  $\text{R}_b$  は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $\text{C}_1-\text{C}_{12}$  アルキル、置換  $\text{C}_1-\text{C}_{12}$  アルキル、 $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルケニル、置換  $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルケニル、 $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルキニル、置換  $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルキニル、 $\text{C}_5-\text{C}_{20}$  アリール、置換  $\text{C}_5-\text{C}_{20}$  アリール、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 $\text{C}_5-\text{C}_7$  脂環式ラジカル、置換  $\text{C}_5-\text{C}_7$  脂環式ラジカル、ハロゲン、 $\text{OJ}_1$ 、 $\text{NJ}_1\text{J}_2$ 、 $\text{SJ}_1$ 、 $\text{N}_3$ 、 $\text{COOJ}_1$ 、アシル ( $\text{C}(=\text{O})-\text{H}$ )、置換アシル、 $\text{CN}$ 、スルホニル ( $\text{S}(=\text{O})_2-\text{J}_1$ )、またはスルホキシル ( $\text{S}(=\text{O})-\text{J}_1$ ) であり、各  $\text{J}_1$  及び  $\text{J}_2$  は、独立して、H、 $\text{C}_1-\text{C}_{12}$  アルキル、置換  $\text{C}_1-\text{C}_{12}$  アルキル、 $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルケニル、置換  $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルケニル、 $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルキニル、置換  $\text{C}_2-\text{C}_{12}$  アルキニル、 $\text{C}_5-\text{C}_{20}$  アリール、置換  $\text{C}_5-\text{C}_{20}$  アリール、アシル ( $\text{C}(=\text{O})-\text{H}$ )、置換アシル、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、 $\text{C}_1-\text{C}_{12}$  アミノアルキル、置換  $\text{C}_1-\text{C}_{12}$  アミノアルキル、または保護基である。

20

30

#### 【0297】

追加の二環式糖部分が当技術分野で知られている。例えば、Freier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25 (22), 4429-4443, Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740, Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456, Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630, Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638, Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222, Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039, Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 8362-8379, Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561, Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7, Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243, Wengel et al., U. S. 7, 053, 207, Imanishi et al., U. S. 6, 268, 490, Imanishi et al., U. S. 6, 770, 748, Imanishi et al., U. S. RE44, 779, Wengel et al., U. S. 6, 794, 499, Wengel

40

50

et al., U. S. 6, 670, 461、Wengel et al., U. S. 7, 034, 133、Wengel et al., U. S. 8, 080, 644、Wengel et al., U. S. 8, 034, 909、Wengel et al., U. S. 8, 153, 365、Wengel et al., U. S. 7, 572, 582、及び Ramasamy et al., U. S. 6, 525, 191、Torsten et al., WO2004/106356、Wengel et al., WO1999/014226、Seth et al., WO2007/134181、Seth et al., U. S. 7, 547, 684、Seth et al., U. S. 7, 666, 854、Seth et al., U. S. 8, 088, 746、Seth et al., U. S. 7, 750, 131、Seth et al., U. S. 8, 030, 467、Seth et al., U. S. 8, 268, 980、Seth et al., U. S. 8, 546, 556、Seth et al., U. S. 8, 530, 640、Migawa et al., U. S. 9, 012, 421、Seth et al., U. S. 8, 501, 805、Allerson et al., US2008/0039618、及び Migawa et al., US2015/0191727 を参照されたい。

10

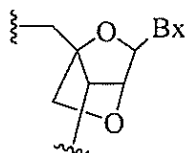
#### 【0298】

ある特定の実施形態では、二環式糖部分及びかかる二環式糖部分を組み込むヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、LNAヌクレオシド（本明細書に記載される）は、 $\alpha$ -L配置でも $\beta$ -D配置でもよい。

20

#### 【0299】

##### 【化6】



LNA ( $\beta$ -D-配置)  
架橋 = 4'-CH<sub>2</sub>-O-2'



$\alpha$ -L-LNA ( $\alpha$ -L-配置)  
架橋 = 4'-CH<sub>2</sub>-O-2'

30

#### 【0300】

$\alpha$ -L-メチレンオキシ ( $4' - CH_2 - O - 2'$ ) または  $\alpha$ -L-LNA 二環式ヌクレオシドは、アンチセンス活性を示したオリゴヌクレオチドに組み込まれている (Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372)。ロックド核酸を siRNA に添加すると、血清中の siRNA の安定性が高まり、オフターゲット効果が減少することが示されている (Elmen, J. et al., (2005) Nucleic Acids Research 33 (1): 439-447、Mook, OR. et al., (2007) Mol Cell Ther 6 (3): 833-843、Grunweller, A. et al., (2003) Nucleic Acids Research 31 (12): 3185-3193)。本明細書では、二環式ヌクレオシドの一般的表現には両方の異性体配置が含まれる。特定の二環式ヌクレオシド（例えば、LNA または cEt）の位置が、本明細書における例示的な実施形態において特定される場合、それらは別段に特定されない限り、 $\beta$ -D 配置にある。

40

#### 【0301】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、1つ以上の非架橋糖置換基及び1つ以上の架橋糖置換基（例えば、5'置換及び4'-2'架橋糖）を含む。

#### 【0302】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、糖サロゲートである。ある特定のかかる実施

50

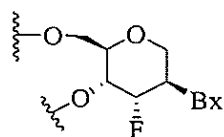
形態では、該糖部分の酸素原子は、例えば、硫黄、炭素、または窒素原子で置き換えられる。ある特定のかかる実施形態では、かかる修飾糖部分はまた、本明細書に記載の架橋及び／または非架橋置換基も含む。例えば、ある特定の糖サロゲートは、4'-硫黄原子ならびに2'位（例えば、Bhat et al., U.S. 7, 875, 733 及び Bhat et al., U.S. 7, 939, 677 参照）及び／または5'位における置換を含む。

#### 【0303】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、5原子以外を有する環を含む。例えば、ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、6員のテトラヒドロピラン（「THP」）を含む。かかるテトラヒドロピランは、さらに修飾されても置換されてもよい。かかる修飾テトラヒドロピランを含むヌクレオシドとしては、ヘキシトール核酸（「HNA」）、アニトール（anitol）核酸（「ANA」）、マニトール（manitol）核酸（「MNA」）（例えば、Leumann, C.J. Bioorg. & Med. Chem. 2002, 10, 841-854 参照）、フルオロHNA：

#### 【0304】

##### 【化7】

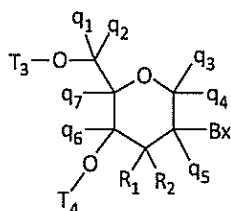


F-HNA

（「F-HNA」、例えば、Swayze et al., U.S. 8, 088, 904、Swayze et al., U.S. 8, 440, 803、Swayze et al., U.S. 8, 796, 437、及び Swayze et al., U.S. 9, 005, 906 参照、F-HNA はまた、F-THP または 3'-フルオロテトラヒドロピランとも称され得る）、ならびに以下の式を有するさらなる修飾 THP 化合物を含むヌクレオシドが挙げられるがこれらに限定されず、

#### 【0305】

##### 【化8】



式中、上記の修飾 THP ヌクレオシドの各々について、独立して

Bx は、核酸塩基部分であり、

T<sub>3</sub> 及び T<sub>4</sub> は、各々独立して、修飾 THP ヌクレオシドをオリゴヌクレオチドの残りに結合するヌクレオシド間結合基であるか、または T<sub>3</sub> 及び T<sub>4</sub> の一方は、修飾 THP ヌクレオシドをオリゴヌクレオチドの残りに結合するヌクレオシド間結合基であり、T<sub>3</sub> 及び T<sub>4</sub> の他方は、H、ヒドロキシル保護基、連結したコンジュゲート基、または 5' もしくは 3' 末端基であり、

q<sub>1</sub>、q<sub>2</sub>、q<sub>3</sub>、q<sub>4</sub>、q<sub>5</sub>、q<sub>6</sub>、及び q<sub>7</sub> は、各々独立して、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル、置換 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> アルケニル、置換 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> アルキニル、または置換 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> アルキニルであり、

R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> の各々は、独立して、水素、ハロゲン、置換または非置換アルコキシ、N J<sub>1</sub> J<sub>2</sub>、S J<sub>1</sub>、N<sub>3</sub>、OC(=X) J<sub>1</sub>、OC(=X) N J<sub>1</sub> J<sub>2</sub>、N J<sub>3</sub> C(=X) N

$J_1$ 、 $J_2$ 、及び  $CN$  の中から選択され、式中、 $X$  は、 $O$ 、 $S$ 、または  $NJ_1$  であり、各  $J_1$ 、 $J_2$ 、及び  $J_3$  は独立して、 $H$  または  $C_1 - C_6$  アルキルである。

【0306】

ある特定の実施形態では、 $q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 、 $q_5$ 、 $q_6$  及び  $q_7$  が各々  $H$  である修飾  $THP$  ヌクレオシドを提供する。ある特定の実施形態では、 $q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 、 $q_5$ 、 $q_6$  及び  $q_7$  の少なくとも1つは、 $H$  以外である。ある特定の実施形態では、 $q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 、 $q_5$ 、 $q_6$  及び  $q_7$  の少なくとも1つは、メチルである。ある特定の実施形態では、 $R_1$  及び  $R_2$  の一方が  $F$  である修飾  $THP$  ヌクレオシドを提供する。ある特定の実施形態では、 $R_1$  は、 $F$  であり、 $R_2$  は、 $H$  であり、ある特定の実施形態では、 $R_1$  は、メトキシであり、 $R_2$  は、 $H$  であり、ある特定の実施形態では、 $R_1$  は、メトキシエトキシであり、 $R_2$  は、 $H$  である。

10

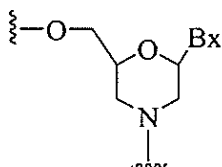
【0307】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、5個よりも多くの原子及び1個よりも多くのヘテロ原子を有する環を含む。例えば、モルホリノ糖部分を含むヌクレオシド、及びオリゴヌクレオチドにおけるそれらの使用が報告されている（例えば、Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510、ならびに Summerton et al., U.S. 5,698,685、Summerton et al., US 5,166,315、Summerton et al., U.S. 5,185,444、及び Summerton et al., U.S. 5,034,506 参照）。本明細書で使用される、「モルホリノ」という用語は、以下の構造を有する糖サロゲートを意味する。

20

【0308】

【化9】



【0309】

ある特定の実施形態では、モルホリノは、例えば、上記のモルホリノ構造から種々の置換基を付加するかまたは変更することによって修飾されてもよい。かかる糖サロゲートは本明細書では「修飾モルホリノ」と呼ばれる。

30

【0310】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは非環式部分を含む。かかる非環式糖サロゲートを含むヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドの例としては、ペプチド核酸（「PNA」）、非環式ブチル核酸（例えば、Kumar et al., Org. Biomol. Chem., 2013, 11, 5853-5865 参照）、ならびに Manoharan et al., WO 2011/133876 に記載のヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、糖サロゲートは非環式部分を含む。かかる非環式糖サロゲートを含むヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドの例としては、ペプチド核酸（「PNA」）、非環式ブチル核酸（例えば、Kumar et al., Org. Biomol. Chem., 2013, 11, 5853-5865 参照）、ならびに Manoharan et al., US 2013/130378 に記載のヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドが挙げられるがこれらに限定されない。PNA 化合物の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第 5,539,082 号、第 5,714,331 号、及び第 5,719,262 号が挙げられるがこれらに限定されない。本発明のオリゴヌクレオチドでの使用に適したさらなる PNA 化合物は、例えば、Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500 に記載されている。

40

50

## 【0311】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、UNA（アンロックド核酸）ヌクレオシドの「アンロックド」糖構造である。UNAは、アンロックド非環式核酸であり、糖の結合のいずれかが除去されており、アンロックド糖サロゲートが形成される。UNAの調製を教示する代表的な米国公開としては、これらに限定されるわけではないが、米国特許第8,314,227号、ならびに米国特許公開第2013/0096289号、第2013/0011922号、及び第2011/0313020号が挙げられ、その各々の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

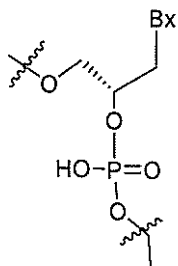
## 【0312】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、以下に示されるGNA（グリコール核酸）ヌクレオシドに見られるグリセロールであり：

## 【0313】

## 【化10】

(S) -GNA



式中、Bxは任意の核酸塩基を表す。

## 【0314】

多くの他の二環式糖及び三環式糖ならびに糖サロゲートが当技術分野で知られており、これらは修飾ヌクレオシドに使用することができる。

## 【0315】

## 2. 特定の修飾核酸塩基

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、非修飾核酸塩基を含む1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含む1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脱塩基ヌクレオシドと称される、核酸塩基を含まない1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上のイノシンヌクレオシド（すなわち、ヒポキサンチン核酸塩基を含むヌクレオシド）を含む。

## 【0316】

ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基は、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、アルキルまたはアルキニル置換ピリミジン、アルキル置換プリン、ならびにN-2、N-6及びO-6置換プリンから選択される。ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基は、5-メチルシトシン、2-アミノプロピルアデニン、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、6-N-メチルグアニン、6-N-メチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-プロピニル（ $-C \equiv C-CH_3$ ）ウラシル、5-プロピニルシトシン、6-アゾウラシル、6-アゾシトシン、6-アゾチミン、5-リボシルウラシル（シュードウラシル）、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル、8-アザ及び他の8-置換プリン、5-ハロ、特に5-ブロモ、5-トリフルオロメチル、5-ハロウラシル、及び5-ハロシトシン、7-メチルグアニン、7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノアデニン、7-デアザグアニン、7-デアザアデニン、3-デアザグアニン、3-デアザアデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、2-N-イソブチルグアニン、4-N-ベンゾイルシトシン、4-N-ベン

10

20

30

40

50

ゾイルウラシル、5-メチル4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチル4-N-ベンゾイルウラシル、ユニバーサル塩基、疎水性塩基、無差別塩基 (promiscuous base)、サイズ拡張塩基 (size-expanded base) 及びフッ素化塩基から選択される。さらなる修飾核酸塩基としては、三環式ピリミジン、例えば、1,3-ジアザフェノキサジン-2-オン、1,3-ジアザフェノチアジン-2-オン及び9-(2-アミノエトキシ)-1,3-ジアザフェノキサジン-2-オン (G-クランプ) が挙げられる。修飾核酸塩基としては、プリンまたはピリミジン塩基が他の複素環により置き換えられているもの、例えば、7-デアザ-アデニン、7-デアザグアノシン、2-アミノピリジン及び2-ピリドンを挙げることできる。さらなる核酸塩基としては、Merigan et al., U. S. 3, 687, 808に開示されているもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, Kroschwitz, J. I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859、Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613、Sanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288に開示されているもの、ならびにChapters 6及び15, Antisense Drug Technology, Crooke S. T., Ed., CRC Press, 2008, 163-166及び442-443に開示されているものが挙げられる。

10

20

【0317】

上述の修飾核酸塩基及び他の修飾核酸塩基のうちのいくつかについての調製を教示する刊行物としては、Manoharan et al., US2003/0158403、Manoharan et al., US2003/0175906、Dinh et al., U. S. 4, 845, 205、Spielvogel et al., U. S. 5, 130, 302、Rogers et al., U. S. 5, 134, 066、Bischofberger et al., U. S. 5, 175, 273、Urdea et al., U. S. 5, 367, 066、Benner et al., U. S. 5, 432, 272、Matteucci et al., U. S. 5, 434, 257、Gmeiner et al., U. S. 5, 457, 187、Cook et al., U. S. 5, 459, 255、Froehler et al., U. S. 5, 484, 908、Matteucci et al., U. S. 5, 502, 177、Hawkins et al., U. S. 5, 525, 711、Haralambidis et al., U. S. 5, 552, 540、Cook et al., U. S. 5, 587, 469、Froehler et al., U. S. 5, 594, 121、Switzer et al., U. S. 5, 596, 091、Cook et al., U. S. 5, 614, 617、Froehler et al., U. S. 5, 645, 985、Cook et al., U. S. 5, 681, 941、Cook et al., U. S. 5, 811, 534、Cook et al., U. S. 5, 750, 692、Cook et al., U. S. 5, 948, 903、Cook et al., U. S. 5, 587, 470、Cook et al., U. S. 5, 457, 191、Matteucci et al., U. S. 5, 763, 588、Froehler et al., U. S. 5, 830, 653、Cook et al., U. S. 5, 808, 027、Cook et al., 6, 166, 199、及びMatteucci et al., U. S. 6, 005, 096が挙げられるがこれらに限定されない。

30

40

【0318】

### 3. 特定の修飾ヌクレオシド間結合

RNA及びDNAの天然に存在するヌクレオシド間結合は、3' から5' へのホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは

50

、1つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を使用して連結され得る。ヌクレオシド間結合基の2つの主なクラスは、リン原子の存在または非存在により規定される。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合としては、ホスホジエステル結合（「P=O」）（非修飾結合または天然に存在する結合とも称される）、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホロアミデート、ホスホロチオエート（「P=S」）、及びホスホロジチオエート（「HS-P=S」）を含むホスホジエステルが挙げられるがこれらに限定されない。リンを含まない代表的なヌクレオシド間結合基としては、メチレンメチルイミノ（ $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ ）、チオジエステル、チオノカルバメート（ $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})(\text{NH})-\text{S}-$ ）、シロキサン（ $-\text{O}-\text{SiH}_2-\text{O}-$ ）、及びN,N'-ジメチルヒドラジン（ $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-$ ）が挙げられるがこれらに限定されない。

天然に存在するホスホジエステルヌクレオシド間結合と比較して、修飾ヌクレオシド間結合は、オリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ耐性を改変する、典型的には増加させるために使用され得る。ある特定の実施形態では、キラル原子を有するヌクレオシド間結合は、ラセミ混合物として調製される場合もあれば別々のエナンチオマーとして調製される場合もある。リン含有及び非リン含有ヌクレオシド間結合の調製方法は、当業者には周知である。

10

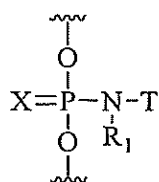
### 【0319】

ある特定の実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合は、参照により本明細書に組み込まれるWO/2021/030778に記載されているもののいずれかである。ある特定の実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合は、以下の式を含み：

20

### 【0320】

#### 【化11】



式中、該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合基に関して独立して、

30

Xは、OまたはSから選択され、

R<sub>1</sub>は、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、及び置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルから選択され、

Tは、SO<sub>2</sub>R<sub>2</sub>、C(=O)R<sub>3</sub>、及びP(=O)R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>から選択され、ここで、

R<sub>2</sub>は、アリール、置換アリール、複素環、置換複素環、芳香族複素環、置換芳香族複素環、ジアゾール、置換ジアゾール、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、及びコンジュゲート基から選択され、

R<sub>3</sub>は、アリール、置換アリール、CH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、OCH<sub>3</sub>、及びコンジュゲート基から選択され、

R<sub>4</sub>は、OCH<sub>3</sub>、OH、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、及びコンジュゲート基から選択され、

40

R<sub>5</sub>は、OCH<sub>3</sub>、OH、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、及び置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルから選択される。

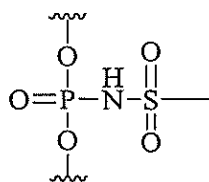
### 【0321】

ある特定の実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合は、以下の式を有するメシルホスホロアミデート結合基を含む：

### 【0322】

50

## 【化 1 2】



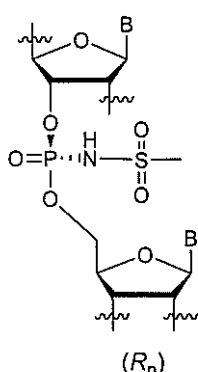
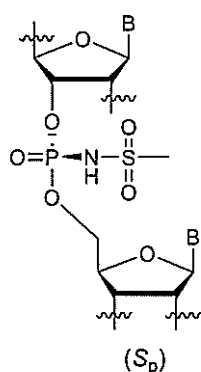
## 【0323】

ある特定の実施形態では、メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合は、キラル中心を含んでもよい。ある特定の実施形態では、(Rp) 及び／または (Sp) メシルホスホロアミデートを含む修飾オリゴヌクレオチドは、それぞれ、以下の式のうちの1つ以上を含み、式中、「B」は、核酸塩基を示す：

10

## 【0324】

## 【化 1 3】



20

## 【0325】

キラル中心を有する代表的なヌクレオシド間結合としては、アルキルホスホネート及びホスホロチオエートが挙げられるがこれらに限定されない。キラル中心を有するヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドは、ステレオランダムなヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として、または特定の立体化学的配置にあるホスホロチオエート結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として調製され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべてがステレオランダムである、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。かかる修飾オリゴヌクレオチドは、各ホスホロチオエート結合の立体化学配置がランダムに選択される合成方法を使用して作製することができる。それにもかかわらず、各々個々のオリゴヌクレオチド分子の各々個々のホスホロチオエートには定義された立体配置がある。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、独立して選択される特定の立体化学的配置にある特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を1つ以上含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも65%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも70%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも80%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも90%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも99%に存在する。かかる修飾オリゴヌクレオチドのキラル濃縮集団は、当技術分野で既知の合成方法、例えば、Okamoto et al., JACS 125, 8307 (2003)、Wan et al. Nuc. Acid. Res. 42,

30

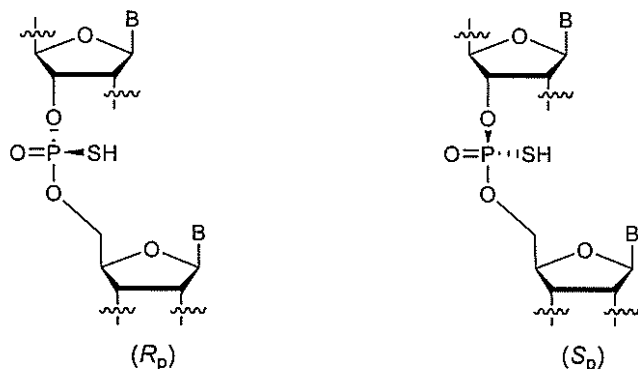
40

50

13456 (2014)、及びWO2017/015555に記載される方法を使用して生成され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、(Sp)配置にある少なくとも1つの示されるホスホロチオエートを有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮される。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、(Rp)配置にある少なくとも1つのホスホロチオエートを有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮される。ある特定の実施形態では、(Rp)及び／または(Sp)ホスホロチオエートを含む修飾オリゴヌクレオチドは、それぞれ、以下の式のうちの1つ以上を含み、式中、「B」は、核酸塩基を示す。

【0326】

【化14】



10

20

【0327】

別段の指示がない限り、本明細書に記載の修飾オリゴヌクレオチドのキラルヌクレオシド間結合は、ステレオランダムの場合もあれば、特定の立体化学的配置にある場合もある。

【0328】

中性のヌクレオシド間結合としては、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、MMI (3'-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-5')、アミド-3 (3'-CH-C(=O)-N(H)-5')、アミド-4 (3'-CH-N(H)-C(=O)-5')、ホルムアセタール (3'-O-CH<sub>2</sub>-O-5')、メトキシプロピル (MOP)、及びチオホルムアセタール (3'-S-CH<sub>2</sub>-O-5') が挙げられるがこれらに限定されない。さらに中性のヌクレオシド間結合としては、シロキサン (ジアルキルシロキサン)、カルボン酸エステル、カルボキサミド、スルフィド、スルホン酸エステル及びアミドを含む、非イオン性結合が挙げられる (例えば、Carbohydrate Modification in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P. D. Cook, Eds., ACS Symposium Series 580; Chapters 3及び4, 40-65参照)。さらなる中性ヌクレオシド間結合としては、N、O、S及びCH<sub>2</sub>の構成成分を混合で含む非イオン結合が挙げられる。

30

【0329】

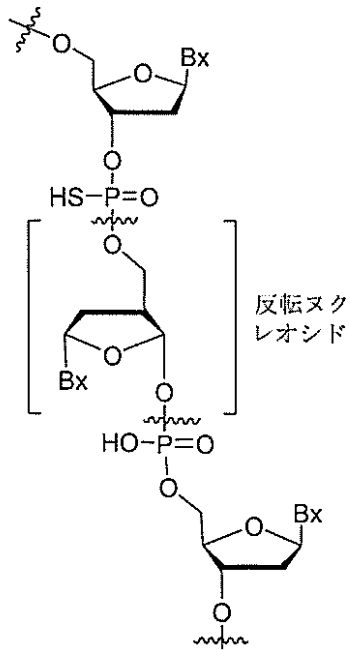
ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、以下に示す1つ以上の反転ヌクレオシドを含み：

【0330】

40

50

## 【化 1 5】



10

20

式中、各 B x は、独立して任意の核酸塩基を表す。

## 【0 3 3 1】

ある特定の実施形態では、反転ヌクレオシドは、末端（すなわち、オリゴヌクレオチドの一端の最後のヌクレオシド）であり、従って、上に示したヌクレオシド間結合は1つのみ存在する。ある特定のかかる実施形態では、さらなる特徴（コンジュゲート基等）を該反転ヌクレオシドに結合させてもよい。かかる末端反転ヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの一端または両末端に結合させることができる。

## 【0 3 3 2】

ある特定の実施形態では、かかる基は、核酸塩基を欠き、本明細書では反転糖部分と呼ばれる。ある特定の実施形態では、反転糖部分は、末端（すなわち、オリゴヌクレオチドの一端の最後のヌクレオシドに結合されている）であり、従って、上記ヌクレオシド間結合は1つのみ存在する。ある特定のかかる実施形態では、さらなる特徴（コンジュゲート基等）を該反転糖部分に結合させてもよい。かかる末端反転糖部分は、オリゴヌクレオチドの一端または両末端に結合させることができる。

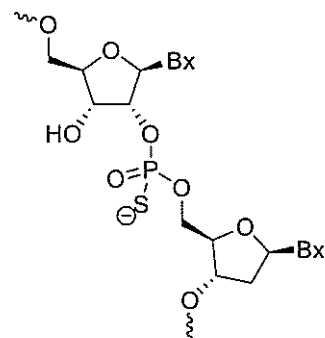
30

## 【0 3 3 3】

ある特定の実施形態では、核酸は、標準的な3'から5'への結合ではなく、2'から5'へ結合される場合がある。かかる結合を以下に示す。

## 【0 3 3 4】

## 【化 1 6】



40

50

式中、各 B x は任意の核酸塩基を表す。

【0335】

B. 特定のモチーフ

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾糖部分を含む1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含む1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を含む。かかる実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの修飾、非修飾、及び異なる修飾糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合は、パターンまたはモチーフを規定する。ある特定の実施形態では、糖部分、核酸塩基、及びヌクレオシド間結合のパターンは各々、互いに独立している。従って、修飾オリゴヌクレオチドは、その糖モチーフ、核酸塩基モチーフ、及び／またはヌクレオシド間結合モチーフによって表され得る（本明細書で使用される、核酸塩基モチーフは、核酸塩基の配列とは独立して、核酸塩基に対する修飾を表す）。

10

【0336】

1. 特定の糖モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って規定のパターンまたは糖モチーフで配置された1つ以上のタイプの修飾糖及び／または非修飾糖部分を含む。場合によっては、かかる糖モチーフとしては、本明細書で論じる糖修飾のいずれかが挙げられるがこれらに限定されない。

【0337】

均一修飾型オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾型糖モチーフを有する領域を含むかまたはそれからなる。かかる実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの完全修飾領域の各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチド全体の各ヌクレオシドが修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾型糖モチーフを有する領域を含むかまたはそれからなり、該完全修飾領域内の各ヌクレオシドは、本明細書では均一修飾型糖モチーフと称される同じ修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、完全修飾型オリゴヌクレオチドは、均一修飾型オリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、均一修飾型ヌクレオチドの各ヌクレオシドは、同じ2'修飾を含む。

20

30

【0338】

ギャップマーオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、2つの外部領域、すなわち「ウイング」と、中央または内部領域、すなわち「ギャップ」とによって画定されるギャップマーモチーフを有する領域を含むかまたはそれからなる。ギャップマーモチーフの3つの領域（5'ウイング、ギャップ、及び3'ウイング）は、連続したヌクレオシド配列を形成し、ここで、両ウイングの各々のヌクレオシドの糖部分のうちの少なくともいくつかは、ギャップのヌクレオシドの糖部分の少なくともいくつかとは異なる。具体的には、各ウイングの、少なくともギャップに最も近いヌクレオシド（5'ウイングの最も3'側のヌクレオシド及び3'ウイングの最も5'側のヌクレオシド）の糖部分は、隣接するギャップヌクレオシドの糖部分とは異なり、ひいてはウイングとギャップとの間の境界（すなわち、ウイング／ギャップ連結部）を画定する。ある特定の実施形態では、ギャップ内の糖部分は、互いに同じである。ある特定の実施形態では、該ギャップは、該ギャップの1つ以上の他のヌクレオシドの糖部分とは異なる糖部分を有する1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、該2つのウイングの糖モチーフは、互いに同じである（対称ギャップマー）。ある特定の実施形態では、5'ウイングの糖モチーフは、3'ウイングの糖モチーフとは異なる（非対称ギャップマー）。

40

【0339】

ある特定の実施形態では、ギャップマーのウイングは、1～6個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの各ヌクレオシドは、修飾糖部分

50

を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも2つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも3つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも4つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも5つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。

【0340】

ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップは、7～12個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの各ヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。

10

【0341】

ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、デオキシギャップマーである。ある特定の実施形態では、各ウイング／ギャップ連結部のギャップ側のヌクレオシドは2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含み、各ウイング／ギャップ連結部のウイング側のヌクレオシドは修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、該ギャップの各ヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの少なくとも1つのヌクレオシドは、2'-OMe糖部分を含む。

20

【0342】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾型糖モチーフを有する部分を含むかまたはそれからなる。かかる実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの完全修飾部分の各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチド全体の各ヌクレオシドが修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾型糖モチーフを有する部分を含むかまたはそれからなり、該完全修飾部分内の各ヌクレオシドは、本明細書で均一修飾型糖モチーフと呼ばれる同じ修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、完全修飾型オリゴヌクレオチドは、均一修飾型オリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、均一修飾型オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、同じ2'修飾を含む。

30

【0343】

本明細書では、ギャップマーの3つの領域の長さ（ヌクレオシドの数）は、表記法[5'-ウイング中のヌクレオシドの数]-[ギャップ中のヌクレオシドの数]-[3'-ウイング中のヌクレオシドの数]を用いて提供され得る。従って、3-10-3ギャップマーは、3個の連結したヌクレオシドを含む各ウイング及び10個の連結したヌクレオシドを含むギャップからなる。かかる命名の後に特定の修飾が続く場合、その修飾は、各ウイングの各糖部分の修飾であり、該ギャップヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む。従って、5-10-5MOEギャップマーは、5個の連結した2'-MOEヌクレオシドを含む5'-ウイング、10個の連結した2'-β-D-デオキシヌクレオシドを含むギャップ、及び5個の連結した2'-MOEヌクレオシドを含む3'-ウイングからなる。3-10-3cEtギャップマーは、3個の連結したcEtヌクレオシドを含む5'-ウイング、10個の連結した2'-β-D-デオキシヌクレオシドを含むギャップ、及び3個の連結したcEtヌクレオシドを含む3'-ウイングからなる。5-8-5ギャップマーは、修飾糖部分を含む5個の連結したヌクレオシドを含む5'-ウイング、8個の連結した2'-β-D-デオキシヌクレオシドを含むギャップ、及び修飾糖部分を含む5個の連結したヌクレオシドを含む3'-ウイングからなる。5-8-5混合ギャップマーは、5'-及び／または3'-ウイングに少なくとも2つの異なる修飾糖部分を有する。

40

50

## 【0344】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-3 BNA ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-3 cEt ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-3 LNA ギャップマーである。

## 【0345】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5'-eeeeeddddddd d d d d e e e e e-3' または 5'-kkk d d d d d d d d d d k k k-3' から選択される糖モチーフを有し、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE 糖部分を表し、各「k」は、cEt 糖部分を表す。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、以下の糖モチーフを有する：5'-eeeeeddddddd d d d d e e e e e-3'、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE 糖部分を表す。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、以下の糖モチーフを有する：5'-kkk d d d d d d d d d k k k-3'、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt 糖部分を表す。

## 【0346】

アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドの糖部分は、修飾糖部分である。

## 【0347】

ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも2つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも3つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも4つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも5つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも6つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも7つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも8つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも9つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも10個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも11個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも12個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも13個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも14個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも15個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも17個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定のかかる実施形態では、少なくとも18個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定のかかる実施形態では、少なくとも20個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも21個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1つまたは2つのヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~3個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~4個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~5個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~7個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~10個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~12個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~13個のヌクレオシドは、2'-OMe 糖

30

## 40

50

## 50

ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、2'-OMe糖部分を含み、少なくとも1つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、または13個のヌクレオシドは、2'-OMe糖部分を含み、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、fyfまたはyfyの糖モチーフを含み、ここで、各「f」は、2'-F糖部分を表し、各「y」は2'-OMe糖部分を表す。ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、yfyfyfyfyfyfyfyfyfyfyfyfyfyfyfyの糖モチーフを有し、ここで、各「f」は、2'-F糖部分を表し、各「y」は2'-OMe糖部分を表す。

## 50

ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの1つのヌクレオシドは、UNAである。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの1つのヌクレオシドは、GNAである。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの1～4個のヌクレオシドは、DNAである。ある特定のかかる実施形態では、該1～4個のDNAヌクレオシドは、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの一端または両末端にある。

## センスRNA i オリゴヌクレオチド

**【 0 3 5 2 】**

**【 0 3 5 3 】**

ある特定の実施形態では、該センスRNA i オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも2つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも3つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも4つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも5つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも6つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも7つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも8つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも9つのヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも10個のヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも11個のヌクレオシドは、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1つまたは2つのヌクレオシドが、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、1~3個のヌクレオシドが、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも1~4個のヌクレオシドが、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも1~5個のヌクレオシドが、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも1~7個のヌクレオシドが、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも1~10個のヌクレオシドが、2'-F糖部分を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも1~11個のヌクレオシドが、

【 0 3 5 4 】

**【 0 3 5 5 】**

**【 0 3 5 6 】**

【 0 3 5 7 】

**【 0 3 5 8 】**

**【 0 3 5 9 】**

### 3. 特定のヌクレオシド間結合モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って規定のパターンまたはモチーフで配置された修飾及び／または非修飾ヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態では、各ヌクレオシド間結合基は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合 ( $P=O$ ) である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合基は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合 ( $P=S$ ) である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、独立して、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合から選択される。ある特定の実施形態では、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合は、独立して、ステレオランダムホスホロチオエート、( $S_p$ ) ホスホロチオエート、及び( $R_p$ ) ホスホロチオエートから選択される。

10

#### 【0360】

##### ギャップマーオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの糖モチーフは、ギャップマーであり、該ギャップ内のヌクレオシド間結合はすべて修飾されている。ある特定の実施形態では、該両ウイングにおけるヌクレオシド間結合のうちのいくつかまたはすべては、非修飾ホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、末端のヌクレオシド間結合は、修飾されている。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの糖モチーフは、ギャップマーであり、該ヌクレオシド間結合モチーフは、少なくとも一方のウイングに少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間結合を含み、この少なくとも1つのホスホジエステル結合は、末端ヌクレオシド間結合ではなく、残りのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定のかかる実施形態では、該ホスホロチオエート結合のすべてが、ステレオランダムである。ある特定の実施形態では、該両ウイング内のすべてのホスホロチオエート結合は、( $S_p$ ) ホスホロチオエートであり、該ギャップは、少なくとも1つの  $S_p$ 、 $S_p$ 、または  $R_p$  モチーフを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、かかるヌクレオシド間結合モチーフを含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている。

20

#### 【0361】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合モチーフ  $s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s$  または  $s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s$  を有し、ここで、各「 $s$ 」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合モチーフ  $s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s$  を有する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合モチーフ  $s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s s$  を有する。

30

#### 【0362】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上のメシルホスホロアミデート結合基を含むヌクレオシド間結合モチーフを含む。ある特定の実施形態では、本明細書におけるヌクレオシド間結合モチーフの1つ以上のホスホロチオエートヌクレオシド間結合または1つ以上のホスホジエステルヌクレオシド間結合は、メシルホスホロアミデート結合基で置換される。

40

#### 【0363】

##### アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの少なくとも1つの結合は、修飾された結合である。ある特定の実施形態では、最も5'側の結合(すなわち、該5'末端から最初のヌクレオシドを該5'末端から二番目のヌクレオシドに結合する)は修飾される。ある特定の実施形態では、2つの最も5'側の結合が修飾される。ある特定の実施形態では、3'末端からの最初の1つまたは2つの結合が修飾される。ある特定の実施形態では、該修飾された結合は、ホスホロチオエート結合である。ある特定の実施形態では、残りの結合は、すべて非修飾ホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合モチーフ

50

s s o o o o o o o o o o o o o o o o o o s s を有し、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

【0364】

ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの結合は、反転結合である。

【0365】

センスRNA i オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、該センスRNA i オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの結合は、修飾された結合である。ある特定の実施形態では、最も5'側の結合（すなわち、該5'末端から最初のヌクレオシドを該5'末端から二番目のヌクレオシドに結合する）は修飾される。ある特定の実施形態では、2つの最も5'側の結合が修飾される。ある特定の実施形態では、3'末端からの最初の1つまたは2つの結合が修飾される。ある特定の実施形態では、該修飾された結合は、ホスホロチオエート結合である。ある特定の実施形態では、残りの結合は、すべて非修飾ホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合モチーフ s s o o o o o o o o o o o o o o s s を有し、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

【0366】

ある特定の実施形態では、該センスRNA i オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの結合は、反転結合である。

【0367】

C. 特定の長さ

オリゴヌクレオチドの長さを、活性を排除することなく増加または減少させることが可能である。例えば、Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992) では、13~25個の核酸塩基長の一連のオリゴヌクレオチドが、卵母細胞注入モデルにおいて標的RNAの切断を誘導する能力について試験された。当該オリゴヌクレオチドの末端近くに8個または11個のミスマッチ塩基を含む25核酸塩基長のオリゴヌクレオチドは、ミスマッチを含まないオリゴヌクレオチドよりも低い程度であったが、標的RNAの特異的切断を導くことができた。同様に、1個または3個のミスマッチを有するものを含む13核酸塩基のオリゴヌクレオチドを使用して、標的の特異的切断が達成された。

【0368】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾オリゴヌクレオチドを含む）は、様々な長さ範囲のいずれかを有し得る。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、X~Y個の連結したヌクレオシドからなり、ここで、Xは、その範囲のヌクレオシドの最小数を表し、Yは、その範囲のヌクレオシドの最大数を表す。ある特定の実施形態では、X及びYは、各々独立して、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、及び50から選択されるが、 $X \leq Y$ であることを条件とする。例えば、ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、12~13個、12~14個、12~15個、12~16個、12~17個、12~18個、12~19個、12~20個、12~21個、12~22個、12~23個、12~24個、12~25個、12~26個、12~27個、12~28個、12~29個、12~30個、13~14個、13~15個、13~16個、13~17個、13~18個、13~19個、13~20個、13~21個、13~22個、13~23個、13~24個、13~25個、13~26個、13~27個、13~28個、13~29個、13~30個、14~15個、14~16個、14~17個、14~18個、14~19個、14~20個、14~21個、14~22個、14~23個、14~24個、14~25個、14

～26個、14～27個、14～28個、14～29個、14～30個、15～16個、  
 15～17個、15～18個、15～19個、15～20個、15～21個、15～22  
 個、15～23個、15～24個、15～25個、15～26個、15～27個、15～  
 28個、15～29個、15～30個、16～17個、16～18個、16～19個、1  
 6～20個、16～21個、16～22個、16～23個、16～24個、16～25個  
 、16～26個、16～27個、16～28個、16～29個、16～30個、17～1  
 8個、17～19個、17～20個、17～21個、17～22個、17～23個、17  
 ～24個、17～25個、17～26個、17～27個、17～28個、17～29個、  
 17～30個、18～19個、18～20個、18～21個、18～22個、18～23  
 個、18～24個、18～25個、18～26個、18～27個、18～28個、18～  
 29個、18～30個、19～20個、19～21個、19～22個、19～23個、1  
 9～24個、19～25個、19～26個、19～27個、19～28個、19～29個  
 、19～30個、20～21個、20～22個、20～23個、20～24個、20～2  
 5個、20～26個、20～27個、20～28個、20～29個、20～30個、21  
 ～22個、21～23個、21～24個、21～25個、21～26個、21～27個、  
 21～28個、21～29個、21～30個、22～23個、22～24個、22～25  
 個、22～26個、22～27個、22～28個、22～29個、22～30個、23～  
 24個、23～25個、23～26個、23～27個、23～28個、23～29個、2  
 3～30個、24～25個、24～26個、24～27個、24～28個、24～29個  
 、24～30個、25～26個、25～27個、25～28個、25～29個、25～3  
 0個、26～27個、26～28個、26～29個、26～30個、27～28個、27  
 ～29個、27～30個、28～29個、28～30個、または29～30個の連結した  
 ヌクレオシドからなる。

10

20

30

40

50

#### 【0369】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾オリゴヌクレオチドを含む）は、  
 16個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド  
 （修飾オリゴヌクレオチドを含む）は、17個の連結したヌクレオシドからなる。ある特  
 定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾オリゴヌクレオチドを含む）は、18個の  
 連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾オ  
 リゴヌクレオチドを含む）は、19個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施

#### 【0370】

##### ギャップマーオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定  
 の実施形態では、該ギャップマーは、X～Y個の連結したヌクレオシドからなり、ここで  
 、Xは、その範囲のヌクレオシドの最小数を表し、Yは、その範囲のヌクレオシドの最大  
 数を表す。ある特定の実施形態では、X及びYは、各々独立して、8、9、10、11、  
 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、2  
 5、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38  
 、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、及び50から  
 選択されるが、 $X \leq Y$ であることを条件とする。例えば、ある特定の実施形態では、ギャ  
 ップマーは、12～13個、12～14個、12～15個、12～16個、12～17個  
 、12～18個、12～19個、12～20個、12～21個、12～22個、12～2  
 3個、12～24個、12～25個、12～26個、12～27個、12～28個、12  
 ～29個、12～30個、13～14個、13～15個、13～16個、13～17個、  
 13～18個、13～19個、13～20個、13～21個、13～22個、13～23  
 個、13～24個、13～25個、13～26個、13～27個、13～28個、13～  
 29個、13～30個、14～15個、14～16個、14～17個、14～18個、1  
 4～19個、14～20個、14～21個、14～22個、14～23個、14～24個

、14～25個、14～26個、14～27個、14～28個、14～29個、14～30個、15～16個、15～17個、15～18個、15～19個、15～20個、15～21個、15～22個、15～23個、15～24個、15～25個、15～26個、15～27個、15～28個、15～29個、15～30個、16～17個、16～18個、16～19個、16～20個、16～21個、16～22個、16～23個、16～24個、16～25個、16～26個、16～27個、16～28個、16～29個、16～30個、17～18個、17～19個、17～20個、17～21個、17～22個、17～23個、17～24個、17～25個、17～26個、17～27個、17～28個、17～29個、17～30個、18～19個、18～20個、18～21個、18～22個、18～23個、18～24個、18～25個、18～26個、18～27個、18～28個、18～29個、18～30個、19～20個、19～21個、19～22個、19～23個、19～24個、19～25個、19～26個、19～27個、19～28個、19～29個、19～30個、20～21個、20～22個、20～23個、20～24個、20～25個、20～26個、20～27個、20～28個、20～29個、20～30個、21～22個、21～23個、21～24個、21～25個、21～26個、21～27個、21～28個、21～29個、21～30個、22～23個、22～24個、22～25個、22～26個、22～27個、22～28個、22～29個、22～30個、23～24個、23～25個、23～26個、23～27個、23～28個、23～29個、23～30個、24～25個、24～26個、24～27個、24～28個、24～29個、24～30個、25～26個、25～27個、25～28個、25～29個、25～30個、26～27個、26～28個、26～29個、26～30個、27～28個、27～29個、27～30個、28～29個、28～30個、または29～30個の連結したヌクレオシドからなる。

10

20

30

40

50

#### 【0371】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、16個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、17個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、18個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、19個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、20個の連結したヌクレオシドからなる。

#### 【0372】

##### アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、17～30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、17～25個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、17～23個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、17～21個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、18～30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、20～30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、21～30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、23～30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、18～25個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、20～22個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、21～23個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、23～24個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、20個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、21個の連結したヌクレオシド

からなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、22個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、23個の連結したヌクレオシドからなる。

#### 【0373】

##### センスRNA i オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、17~30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、17~25個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、17~23個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、17~21個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、18~30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、20~30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、21~30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、23~30個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、18~25個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、20~22個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、21~23個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、23~24個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、20個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、21個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、22個の連結したヌクレオシドからなる。ある特定の実施形態では、センスRNA i オリゴヌクレオチドは、23個の連結したヌクレオシドからなる。

#### 【0374】

##### D. 特定の修飾オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、上記の修飾（糖、核酸塩基、ヌクレオシド間結合）は、修飾オリゴヌクレオチドに組み込まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、それらの修飾モチーフ及び全長によって特徴付けられる。ある特定の実施形態では、かかるパラメータは、各々互いに独立している。従って、別段の指示がない限り、ギャップマー糖モチーフを有するオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、修飾されていても修飾されていなくてもよく、糖修飾のギャップマー修飾パターンに従う場合も従わない場合もある。例えば、糖ギャップマーのウイング領域内のヌクレオシド間結合は、互いに同じでも異なってもよく、糖モチーフのギャップ領域のヌクレオシド間結合と同じでも異なってもよい。同様に、かかる糖ギャップマーオリゴヌクレオチドは、糖修飾のギャップマーパターンとは無関係に1つ以上の修飾核酸塩基を含み得る。別段の指示がない限り、いずれの修飾も、核酸塩基配列とは独立している。

#### 【0375】

##### E. 修飾オリゴヌクレオチドの特定の集団

集団の修飾オリゴヌクレオチドがすべて同じ分子式を有する修飾オリゴヌクレオチドの集団は、ステレオランダム集団の場合もキラル濃縮集団の場合もある。すべての修飾オリゴヌクレオチドのキラル中心のすべては、ステレオランダム集団ではステレオランダムである。キラル濃縮集団において、少なくとも1つの特定のキラル中心は、該集団の修飾オリゴヌクレオチドにおいてはステレオランダムではない。ある特定の実施形態では、キラル濃縮集団の修飾オリゴヌクレオチドは、 $\beta$ -Dリボシル糖部分について濃縮されており、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべては、ステレオランダムである。ある特定の実施形態では、キラル濃縮集団の修飾オリゴヌクレオチドは、 $\beta$ -Dリボシル糖部分、及び特定の立体化学的配置にある少なくとも1つの特定のホスホロチオエートヌクレオ

シド間結合の両方について濃縮されている。

【0376】

F. 核酸塩基配列

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（非修飾または修飾オリゴヌクレオチド）は、それらの核酸塩基配列によってさらに表される。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第二のオリゴヌクレオチドまたは同定された参照核酸、例えば、標的核酸に相補的な核酸塩基配列を有する。ある特定のかかる実施形態では、オリゴヌクレオチドの領域は、第二のオリゴヌクレオチドまたは同定された参照核酸、例えば、標的核酸に相補的な核酸塩基配列を有する。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの領域または全長の核酸塩基配列は、第二のオリゴヌクレオチドまたは核酸、例えば、標的核酸に、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的である。

10

【0377】

II. 特定のオリゴマー化合物

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾または非修飾）ならびに任意に1つ以上のコンジュゲート基及び／または末端基からなるオリゴマー化合物を本明細書に提供する。コンジュゲート基は、1つ以上のコンジュゲート部分及び該コンジュゲート部分をオリゴヌクレオチドに結合するコンジュゲートリンカーからなる。コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの一端もしくは両末端及び／または任意の内部位置に結合され得る。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドの2'位に結合される。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの一端または両末端に結合されたコンジュゲート基は、末端基である。ある特定のかかる実施形態では、コンジュゲート基または末端基は、オリゴヌクレオチドの3'末端及び／または5'末端に結合される。ある特定のかかる実施形態では、コンジュゲート基（または末端基）は、オリゴヌクレオチドの3'末端に結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの3'末端付近に結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基（または末端基）は、オリゴヌクレオチドの5'末端に結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの5'末端付近に結合される。

20

【0378】

末端基の例としては、コンジュゲート基、キャッピング基、リン酸部分、保護基、修飾または非修飾ヌクレオシド、及び独立して修飾または非修飾である2つ以上のヌクレオシドが挙げられるがこれらに限定されない。

30

【0379】

A. 特定のコンジュゲート基

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つ以上のコンジュゲート基に共有結合している。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、結合したオリゴヌクレオチドの薬力学的特性、薬物動態学的特性、安定性、結合、吸収、組織分布、細胞分布、細胞取り込み、電荷及びクリアランスが挙げられるがこれらに限定されない1つ以上の特性を修飾する。

【0380】

ある特定の実施形態では、1つ以上の炭水化物部分の修飾オリゴヌクレオチドへのコンジュゲーションにより、当該修飾オリゴヌクレオチドの1つ以上の特性が最適化され得る。ある特定の実施形態では、該炭水化物部分は、該修飾オリゴヌクレオチドの修飾サブユニットに結合される。例えば、修飾オリゴヌクレオチドの1つ以上のリボヌクレオチドサブユニットのリボース糖は、別の部分、例えば、炭水化物リガンドが結合した非炭水化物（好ましくは環状）担体で置き換えられ得る。サブユニットのリボース糖がそのように置き換えられたリボヌクレオチドサブユニットは、本明細書では、修飾糖部分であるリボース置換修飾サブユニット（RRMS）と呼ばれる。環状担体は、炭素環系でよく、すなわち、1つ以上の環原子は、ヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、硫黄であり得る。該環状担体は、単環式環系の場合もあれば、2つ以上の環、例えば、縮合環を含む場合もある。該

40

50

環状担体は、完全に飽和した環系の場合もあれば、1つ以上の二重結合を含む場合もある。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。

【0381】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、結合したオリゴヌクレオチドに新たな特性、例えば、該オリゴヌクレオチドの検出を可能にするフルオロフォアまたはレポーター基を付与する。ある特定のコンジュゲート基及びコンジュゲート部分についてはこれまでに記載されており、例えば、コレステロール部分 (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)、コリン酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060)、チオエーテル、例えばヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309、Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538)、脂肪族鎖、例えばドデカンジオールまたはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 1111-1118、Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330、Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54)、リン脂質、例えばジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールまたはトリエチル-アンモニウム1, 2-ジ-0-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654、Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783)、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973)、またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)、オクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937)、トコフェロール基 (Nishina et al., Molecular Therapy Nucleic Acids, 2015, 4, e220、及びNishina et al., Molecular Therapy, 2008, 16, 734-740)、またはGalNAcクラスター (例えばWO2014/179620) である。

【0382】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、C22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、C5アルキル、C22アルケニル、C20アルケニル、C16アルケニル、C10アルケニル、C21アルケニル、C19アルケニル、C18アルケニル、C15アルケニル、C14アルケニル、C13アルケニル、C12アルケニル、C11アルケニル、C9アルケニル、C8アルケニル、C7アルケニル、C6アルケニル、またはC5アルケニルのいずれかから選択され得る。

【0383】

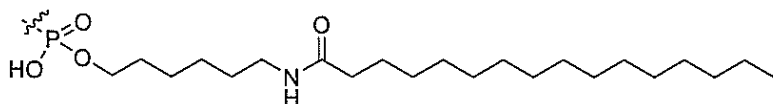
ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、そのアルキル鎖が1つ以上の不飽和結合を有するC22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、及びC5アルキルのいずれかから選択され得る。

【0384】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、以下の構造を有する脂質である。

【0385】

【化17】



【0386】

#### 1. コンジュゲート部分

コンジュゲート部分としては、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ペプチド、炭水化物（例えば、GalNAc）、抗体、ビタミン部分、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、フルオロフォア、及び色素が挙げられるがこれらに限定されない。

【0387】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、活性原薬、例えば、アスピリン、ワーファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェンブフェン、ケトプロフェン、(S)-(+) - プラノプロフェン、カルプロフェン、ダンシルサルコシン、2,3,5-トリヨード安息香酸、フィンゴリモド、フルフェナム酸、フォルリン酸、ベンゾサイアジアザイド、クロロチアジド、ジアゼピン、インドメタシン、バルビツール酸、セファロスポリン、サルファ薬、糖尿病治療薬、抗菌薬または抗生物質を含む。

【0388】

#### 2. コンジュゲートリンカー

コンジュゲート部分は、コンジュゲートリンカーを介してオリゴヌクレオチドに結合している。ある特定のオリゴマー化合物では、コンジュゲートリンカーは単一の化学結合である（すなわち、コンジュゲート部分は単結合を介してオリゴヌクレオチドに直接結合される）。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、ヒドロカルビル鎖等の鎖構造、またはエチレングリコール、ヌクレオシド、もしくはアミノ酸単位等の繰り返し単位のオリゴマーを含む。

【0389】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、ピロリジンを含む。

【0390】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル、及びヒドロキシルアミノから選択される1つ以上の基を含む。ある特定のかかる実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、アルキル基、アミノ基、オキソ基、アミド基、及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、アルキル基及びアミド基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、アルキル基及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つのリン部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つのリン酸基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つの中性結合基を含む。

【0391】

ある特定の実施形態では、上記のコンジュゲートリンカーを含むコンジュゲートリンカーは、二官能性の連結部分、例えば、本明細書に提供するオリゴヌクレオチド等の化合物にコンジュゲート基を結合させるために有用であることが当分野で既知のものである。一般に、二官能性連結部分は、少なくとも2つの官能基を含む。該官能基のうちの一方は、化合物上の特定の部位に結合するように選択され、他方は、コンジュゲート基に結合する

10

20

30

40

50

ように選択される。二官能性連結部分に使用される官能基の例としては、求核基と反応させるための求電子剤及び求電子基と反応させるための求核剤が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、二官能性連結部分は、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、アルキル、アルケニル、及びアルキニルから選択される1つ以上の基を含む。

#### 【0392】

コンジュゲートリンカーの例としては、ピロリジン、8-アミノ-3,6-ジオキサオクタ酸(ADO)、スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサノ-1-カルボキシレート(SMCC)、及び6-アミノヘキサ酸(AHEXまたはAHA)が挙げられるがこれらに限定されない。他のコンジュゲートリンカーとしては、置換もしくは非置換 $C_{1-10}$ アルキル、置換もしくは非置換 $C_{2-10}$ アルケニル、または置換もしくは非置換 $C_{2-10}$ アルキニルが挙げられるがこれらに限定されず、ここで、好ましい置換基の非限定的なリストには、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルが含まれる。

#### 【0393】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、1~10個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、2~5個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、厳密に3個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、TCAモチーフを含む。ある特定の実施形態では、かかるリンカーヌクレオシドは、修飾ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、かかるリンカーヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、非修飾である。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、プリン、置換プリン、ピリミジン、または置換ピリミジンから選択される、任意に保護される複素環式塩基を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ウラシル、チミン、シトシン、4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチルシトシン、4-N-ベンゾイル-5-メチルシトシン、アデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、グアニン及び2-N-イソブチリルグアニンから選択されるヌクレオシドである。リンカーヌクレオシドは、標的組織に到達した後、オリゴマー化合物から切断されることが通常は望ましい。従って、リンカーヌクレオシドは通常、切断可能な結合を介して互いにかつオリゴマー化合物の残部に結合される。ある特定の実施形態では、かかる切断可能な結合は、ホスホジエステル結合である。

#### 【0394】

本明細書において、リンカーヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの一部であるとは見なされない。従って、オリゴマー化合物が、特定の数または範囲の連結したヌクレオシド及び／または参照核酸に対する特定の相補性パーセントからなるオリゴヌクレオチドを含み、かつ該オリゴマー化合物が、リンカーヌクレオシドを含むコンジュゲートリンカーを含むコンジュゲート基も含む実施形態では、これらのリンカーヌクレオシドは、該オリゴヌクレオチドの長さにカウントされず、該参照核酸に対する該オリゴヌクレオチドの相補性パーセントを決定するうえで用いられない。例えば、オリゴマー化合物は、(1) 8~30個のヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチド、及び(2) 修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドと連続する1~10個のリンカーヌクレオシドを含むコンジュゲート基を含み得る。かかるオリゴマー化合物中の連続する連結したヌクレオシドの総数は30よりも多い。代替的に、オリゴマー化合物は、8~30個のヌクレオシドからなり、コンジュゲート基を含まない修飾オリゴヌクレオチドを含んでもよい。かかるオリゴマー化合物中の連続する連結したヌクレオシドの総数は、30以下である。別段の指示がない限り、コンジュゲートリンカーは、10個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、5個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、3個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、2個以下のリンカーヌクレオ

シドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、わずか1個のリンカーヌクレオシドを含む。

【0395】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基がオリゴヌクレオチドから切断されることが望ましい。例えば、ある特定の状況において、特定のコンジュゲート部分を含むオリゴマー化合物は、特定の細胞型により取り込まれやすいが、オリゴマー化合物が取り込まれた後、コンジュゲート基が切断されて、非コンジュゲートまたは親オリゴヌクレオチドが放出されることが望ましい。従って、ある特定のコンジュゲートリンカーは、1つ以上の切断可能な部分を含み得る。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、切断可能な結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、少なくとも1つの切断可能な結合を含む原子団である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、1つ、2つ、3つ、4つ、または4つよりも多くの切断可能な結合を有する原子団を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リソソーム等の細胞の内部または細胞内区画で選択的に切断される。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ヌクレアーゼ等の内在性酵素によって選択的に切断される。

10

【0396】

ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、アミド、エステル、エーテル、ホスホジエステルの一方もしくは両方のエステル、リン酸エステル、カルバメート、またはジスルフィドの中から選択される。ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、ホスホジエステルの一方または両方のエステルである。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リン酸またはホスホジエステルを含む。ある特定の実施形態では、該切断可能な部分は、オリゴヌクレオチドとコンジュゲート部分またはコンジュゲート基との間のリン酸結合である。

20

【0397】

ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、1つ以上のリンカーヌクレオシドを含むかまたはそれからなる。ある特定のかかる実施形態では、該1つ以上のリンカーヌクレオシドは、互いに及び／または切断可能な結合によってオリゴマー化合物の残りに結合される。ある特定の実施形態では、かかる切断可能な結合は、修飾されていないホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リン酸ヌクレオシド間結合によってオリゴヌクレオチドの3'または5'末端ヌクレオシドのいずれかに結合され、かつリン酸またはホスホロチオエート結合によってコンジュゲートリンカーまたはコンジュゲート部分の残りの部分に共有結合した2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定のかかる実施形態では、該切断可能な部分は、2'-デオキシアデノシンである。

30

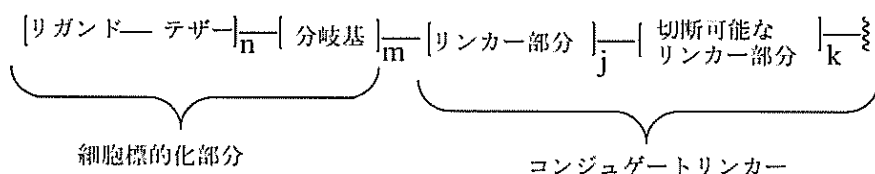
【0398】

### 3. 細胞標的化部分

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、下記の一般式を有し、

【0399】

【化18】



40

式中、nは1～約3であり、nが1の場合mは0であり、nが2以上の場合mは1であり、jは1または0であり、kは1または0である。

【0400】

ある特定の実施形態では、nは1であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは1であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、n

50

は1であり、jは1であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは1であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは1であり、kは1である。

#### 【0401】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は少なくとも1つのテザーリガンドを有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した2つのテザーリガンドを含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した3つのテザーリガンドを含む。

10

#### 【0402】

ある特定の実施形態では、細胞標的化部分の各リガンドは、標的細胞上の少なくとも1つの受容体型に親和性を有する。ある特定の実施形態では、各リガンドは、哺乳類の肝臓細胞の表面上の少なくとも1つの受容体型に親和性を有する。ある特定の実施形態では、各リガンドは、肝臓のアシアロ糖タンパク質受容体（ASGPR）に親和性を有する。ある特定の実施形態では、各リガンドは、炭水化物である。

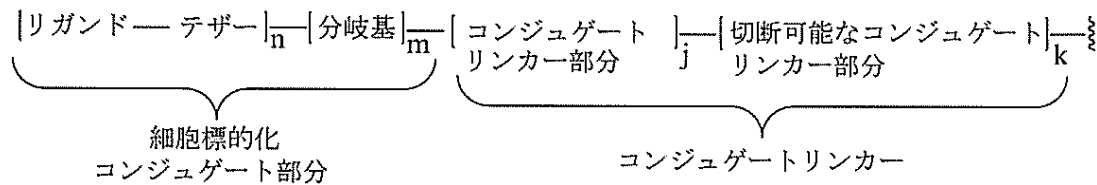
#### 【0403】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、細胞標的化コンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、下記の一般式を有し、

20

#### 【0404】

#### 【化19】



式中、nは1～約3であり、nが1の場合mは0であり、nが2以上の場合mは1であり、jは1または0であり、kは1または0である。

30

#### 【0405】

ある特定の実施形態では、nは1であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは1であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは1であり、jは1であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは1であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは1であり、kは1である。

40

#### 【0406】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、少なくとも1つのテザーリガンドを有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した2つのテザーリガンドを含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した3つのテザーリガンドを含む。

#### 【0407】

ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、ニューロンを標的とする。ある特定の実施形態では、該細胞標的化部分は、神経伝達物質受容体を標的とする。ある特定の実施形態では、該細胞標的化部分は、神経伝達物質トランスポーターを標的とする。ある特定の実施形態では、該細胞標的化部分は、GABAトランスポーターを標的とする。例えば、

50

WO 2011/131693、WO 2014/064257を参照されたい。

【0408】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、トランスフェリン受容体 (TfR)、(本明細書ではTfR1及びCD71とも呼ばれる) に対して親和性を有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のコンジュゲート基は、抗TfR1抗体またはその断片を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なタンパク質またはペプチドを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なアプタマーを含む。ある特定の実施形態では、該抗TfR1抗体またはその断片は、WO1991/004753、WO2013/103800、WO2014/144060、WO2016/081643、WO2016/179257、WO2016/207240、WO2017/221883、WO2018/129384、WO2018/124121、WO2019/151539、WO2020/132584、WO2020/028864、US7,208,174、US9,034,329、及びUS10,550,188に記載のものが挙げられるがこれらに限定されない当技術分野で既知の任意のものであり得る。ある特定の実施形態では、抗TfR1抗体の断片は、F(ab')<sub>2</sub>、Fab、Fab'、Fv、またはscFvである。

10

【0409】

ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なタンパク質またはペプチドを含む。ある特定の実施形態では、TfR1を結合することが可能なタンパク質またはペプチドは、WO2019/140050、WO2020/037150、WO2020/124032、及びUS10,138,483に記載のものが挙げられるがこれらに限定されない当技術分野で既知の任意のものであり得る。

20

【0410】

ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なアプタマーを含む。ある特定の実施形態では、TfR1を結合することが可能なアプタマーは、WO2013/163303、WO2019/033051、及びWO2020/245198に記載のものが挙げられるがこれらに限定されない当技術分野で既知の任意のものであり得る。

【0411】

B. 特定の末端基

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、1つ以上の末端基を含む。ある特定のかかる実施形態では、オリゴマー化合物は、安定化5'-リン酸を含む。安定化5'-リン酸としては、5'-ビニルホスホネートが挙げられるがこれに限定されない5'-ホスホネートが挙げられる。ある特定の実施形態では、末端基は、1つ以上の脱塩基糖部分及び/または反転ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、末端基は、1つ以上の2'-連結ヌクレオシドまたは糖部分を含む。ある特定のかかる実施形態では、該2'-連結基は、脱塩基糖部分である。

30

【0412】

III. アンチセンス活性

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物及びオリゴマー二重鎖は、標的核酸にハイブリダイズすることで少なくとも1つのアンチセンス活性を与えることが可能である。かかるオリゴマー化合物及びオリゴマー二重鎖は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、標準インビトロアッセイにおいて標的核酸の量または活性を25%以上低減するかまたは阻害する場合にアンチセンス活性を有する。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、1つ以上の標的核酸に選択的に作用する。かかるアンチセンス化合物は、1つ以上の標的核酸にハイブリダイズして1つ以上の所望のアンチセンス活性を与え、かつ1つ以上の非標的核酸にはハイブリダイズしないか、または重大な望ましくないアンチセンス活性をもたらすような形で1つ以上の非標的核酸にハイブリダイズしない核酸塩基配列を含む。

40

50

## 【0413】

ある特定のアンチセンス活性では、標的核酸へのアンチセンス化合物のハイブリダイゼーションは、該標的核酸を切断するタンパク質の動員をもたらす。例えば、ある特定のアンチセンス化合物は、RNase Hを介した標的核酸の切断をもたらす。RNase Hは、RNA：DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞性エンドヌクレアーゼである。かかるRNA：DNA二重鎖のDNAは、非修飾DNAである必要はない。ある特定の実施形態では、RNase H活性を誘発するうえで十分に「DNA様」のアンチセンス化合物を本明細書に記載する。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップ内で1つ以上の非DNA様ヌクレオシドが許容される。

## 【0414】

ある特定のアンチセンス活性では、アンチセンス化合物またはアンチセンス化合物の部分は、RNA誘導サイレンシング複合体(RISC)に取り込まれ、最終的に標的核酸の切断をもたらす。例えば、ある特定のアンチセンス化合物は、アルゴノートによる標的核酸の切断をもたらす。RISCに取り込まれるアンチセンス化合物は、RNAi剤である。RNAi剤は、二本鎖(siRNAもしくはdsRNAi)の場合も一本鎖(ssRNAi)の場合もある。

## 【0415】

ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物の標的核酸へのハイブリダイゼーションは、その標的核酸を切断するタンパク質の動員をもたらさない。ある特定の実施形態では、該アンチセンス化合物の該標的核酸へのハイブリダイゼーションは、該標的核酸のスプライシングの変化をもたらす。ある特定の実施形態では、標的核酸へのアンチセンス化合物のハイブリダイゼーションは、該標的核酸とタンパク質または他の核酸との結合相互作用の阻害をもたらす。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物の標的核酸へのハイブリダイゼーションは、該標的核酸の翻訳の変化をもたらす。

## 【0416】

アンチセンス活性は、直接的または間接的に観察され得る。ある特定の実施形態では、アンチセンス活性の観察または検出は、標的核酸の量もしくはかかる標的核酸によってコードされるタンパク質の量の変化、核酸もしくはタンパク質のスプライスバリエーションの変化、及び／または細胞もしくは対象における表現型の変化を観察または検出することを伴う。

## 【0417】

## IV. 特定の標的核酸

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むかまたはそれからなる。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、内在性RNA分子である。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、タンパク質をコードする。ある特定のかかる実施形態では、該標的核酸は、成熟mRNA及びpre-mRNA(イントロン、エクソン、及び非翻訳領域を含む)から選択される。ある特定の実施形態では、該標的RNAは、成熟mRNAである。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、pre-mRNAである。ある特定の実施形態では、該標的領域は、完全にイントロン内にある。ある特定の実施形態では、該標的領域は、イントロン／エクソン接合部にまたがる。ある特定の実施形態では、該標的領域は、イントロン内に少なくとも50%位置する。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、レトロ遺伝子のRNA転写産物である。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、非コードRNAである。ある特定の実施形態では、該標的RNAは、長い非コードRNA、短い非コードRNA、イントロンRNA分子から選択される。

## 【0418】

## A. 標的核酸に対する相補性／ミスマッチ及び二重鎖相補性

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドの全長にわたって標的核酸に相補的である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に99%、95%、90%、85%、または80%相補的である。ある特定の実施形態

10

20

30

40

50

では、オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドの全長にわたって標的核酸に少なくとも80%相補的であり、標的核酸に100%または完全に相補的な領域を含む。ある特定の実施形態では、該完全な相補性の領域は、6~20、10~18、または18~20核酸塩基長である。

#### 【0419】

活性を消失させることなくミスマッチ塩基を導入することが可能である。例えば、Gautschi et al (J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001)は、bcl-2 mRNAに対して100%の相補性を有し、かつbcl-xL mRNAに対して3つのミスマッチを有するオリゴヌクレオチドが、インビトロ及びインビボでbcl-2とbcl-xLの両方の発現を低減できることを実証した。さらに、このオリゴヌクレオチドは、インビボで強力な抗腫瘍活性も示した。Maher及びDolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988)は、一連の核酸塩基14個からなるタンデムオリゴヌクレオチド、ならびにそれぞれ、2つまたは3つの該タンデムオリゴヌクレオチド配列を含む28個及び42個の核酸塩基のオリゴヌクレオチドを、ウサギ網状赤血球アッセイにおいてヒトDHFRの翻訳を停止させる能力について試験した。これら3つの14個の核酸塩基のオリゴヌクレオチドの各々は単独で翻訳を阻害することができたが、28個または42個の核酸塩基のオリゴヌクレオチドよりもレベルは低かった。

10

#### 【0420】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に対して1つ以上のミスマッチ核酸塩基を含む。ある特定の実施形態では、標的に対するアンチセンス活性は、かかるミスマッチによって低減されるが、非標的に対する活性はより大きく低減される。従って、ある特定の実施形態では、該オリゴヌクレオチドの選択性が改善される。

20

#### 【0421】

##### ギャップマーオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、ミスマッチは、ギャップマーモチーフを有するオリゴヌクレオチド内に特異的に配置される。ある特定の実施形態では、該ミスマッチは、ギャップ領域の5'末端から1、2、3、4、5、6、7、または8位にある。ある特定の実施形態では、該ミスマッチは、ギャップ領域の3'末端から9、8、7、6、5、4、3、2、1位にある。ある特定の実施形態では、該ミスマッチは、ウイング領域の5'末端から1、2、3、または4位にある。ある特定の実施形態では、該ミスマッチは、ウイング領域の3'末端から4、3、2、または1位にある。

30

#### 【0422】

##### アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、標的核酸に対して1つ以上のミスマッチ核酸塩基を含む。ある特定の実施形態では、標的に対するRNA i 活性は、かかるミスマッチによって低減されるが、非標的に対する活性はより大きく低減される。従って、ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの選択性が改善される。

#### 【0423】

ある特定の実施形態では、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、標的核酸に相補的な標的化領域を含む。ある特定の実施形態では、該標的化領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、または少なくとも25個の連続するヌクレオチドを含むかまたはそれからなる。ある特定の実施形態では、該標的化領域は、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドのヌクレオチドの70%、80%、85%、90%、または95%を構成する。ある特定の実施形態では、該標的化領域は、該アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドのヌクレオチドのすべてを構成する。ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNA i オリ

40

50

ゴヌクレオチドの標的化領域は、標的核酸に少なくとも99%、95%、90%、85%、または80%相補的である。ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの標的化領域は、標的核酸に100%相補的である。

#### 【0424】

##### センスRNAiオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、RNAi剤は、センスRNAiオリゴヌクレオチドを含む。かかる実施形態では、センスRNAiオリゴヌクレオチドは、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドに相補的な領域を含む。ある特定の実施形態では、該相補的な領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、または少なくとも25個の連続するヌクレオチドを含むかまたはそれからなる。ある特定の実施形態では、該相補的な領域は、該センスRNAiオリゴヌクレオチドのヌクレオシドの70%、80%、85%、90%、または95%を構成する。ある特定の実施形態では、該相補的な領域は、該センスRNAiオリゴヌクレオチドのヌクレオシドのすべてを構成する。ある特定の実施形態では、該センスRNAiオリゴヌクレオチドの相補的な領域は、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドに少なくとも99%、95%、90%、85%、または80%相補的である。ある特定の実施形態では、該センスRNAiオリゴヌクレオチドの相補的な領域は、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドに100%相補的である。

#### 【0425】

センスRNAiオリゴヌクレオチドの相補的な領域は、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドとハイブリダイズして二重鎖領域を形成する。ある特定の実施形態では、かかる二重鎖領域は、7つのハイブリダイズした対のヌクレオシドからなる（各対の一方はアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド上にあり、各対の他方はセンスRNAiオリゴヌクレオチド上にある）。ある特定の実施形態では、二重鎖領域は、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、または少なくとも25個のハイブリダイズした対を含む。ある特定の実施形態では、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、二重鎖領域内にある（すなわち、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、オーバーハングヌクレオシドを有しない）。ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、3'末端及び／または5'末端に不對ヌクレオシド（オーバーハングヌクレオシド）を含む。ある特定の実施形態では、センスRNAiオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、二重鎖領域内にある（すなわち、該センスRNAiオリゴヌクレオチドは、オーバーハングヌクレオシドを有しない）。ある特定の実施形態では、該センスRNAiオリゴヌクレオチドは、3'末端及び／または5'末端に不對ヌクレオシド（オーバーハングヌクレオシド）を含む。ある特定の実施形態では、該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド及び該センスRNAiオリゴヌクレオチドによって形成される二重鎖は、一端または両末端にオーバーハングを含まない。オーバーハングのないかかる末端は、平滑末端と呼ばれる。該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドがオーバーハングヌクレオシドを有するある特定の実施形態では、それらのオーバーハングヌクレオシドのうちの1つ以上は、標的核酸に相補的である。該アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドがオーバーハングヌクレオシドを有するある特定の実施形態では、それらのオーバーハングヌクレオシドのうちの1つ以上は、標的核酸に相補的ではない。

#### 【0426】

##### B. DUX4

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むかまたはそれからなり、該標的核酸は、DUX4である。ある特定の

実施形態では、DUX4核酸は、配列番号1（GENBANKアクセッション番号NC\_000004.12、ヌクレオチド190171001から190187000まで切断されている）または配列番号2（GENBANKアクセッション番号NM\_001306068.2）に示される配列を有する。ある特定の実施形態では、DUX4核酸は、配列番号3（GENBANKアクセッション番号FJ439133.1）及び配列番号4（GENBANKアクセッション番号NM\_001293798.2）が挙げられるがこれらに限定されない既知のDUX4のスプライスバリエーションのいずれかに示される配列を有する。ある特定の実施形態では、細胞を配列番号1、配列番号2、配列番号3、または配列番号4に相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、DUX4 RNAの量が減少し、ある特定の実施形態では、DUX4タンパク質の量が減少する。ある特定の実施形態では、該オリゴマー化合物は、修飾オリゴヌクレオチドからなる。ある特定の実施形態では、該オリゴマー化合物は、修飾オリゴヌクレオチド及びコンジュゲート基からなる。

10

【0427】

ある特定の実施形態では、細胞を配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、細胞におけるDUX4 RNAの量が減少する。ある特定の実施形態では、細胞を配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、細胞におけるDUX4タンパク質の量が減少する。ある特定の実施形態では、該細胞は、インビトロである。ある特定の実施形態では、該細胞は、対象中に存在する。ある特定の実施形態では、該オリゴマー化合物は、修飾オリゴヌクレオチドからなる。ある特定の実施形態では、対象中の細胞を配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、DUX4に関連する疾患または障害の1つ以上の症状または特徴が改善される。ある特定の実施形態では、該DUX4に関連する疾患または障害は、神経筋障害である。ある特定の実施形態では、該DUX4に関連する疾患または障害は、筋ジストロフィーである。ある特定の実施形態では、該筋ジストロフィーは、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）である。

20

【0428】

ある特定の実施形態では、配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物は、標準インビトロアッセイに従って投与された場合、DUX4 RNAのインビトロでの量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の実施形態では、配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物は、標準インビボアッセイに従って投与された場合、DUX4 RNAのインビボでの量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の実施形態では、配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物は、標準インビトロアッセイに従って投与された場合、DUX4タンパク質のインビトロでの量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の実施形態では、配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物は、対象の筋肉に含まれるDUX4 RNAの量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の実施形態では、配列番号1～4のいずれか1つに相補的なオリゴマー化合物は、対象の筋肉に含まれるDUX4タンパク質の量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくと

30

40

50

も 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、または少なくとも 90% 低減することが可能である。

【0429】

C. 特定の組織における特定の標的核酸

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むかまたはそれからなり、該標的核酸は、薬理学的に関連する組織において発現される。ある特定の実施形態では、該薬理学的に関連する組織は、筋細胞及び筋組織である。かかる筋組織としては、上肢及び下肢、体幹、頭部、及び頸部が挙げられるがこれらに限定されないすべての骨格筋が挙げられる。

【0430】

V. 特定の方法及び使用

本明細書に提供するある特定の実施形態は、DUX4 の発現または活性を低減または阻害する方法に関し、これは、DUX4 に関連する疾患または障害を治療、予防、または改善するために有用であり得る。ある特定の実施形態では、該 DUX4 に関連する疾患または障害は、神経筋障害である。ある特定の実施形態では、該 DUX4 に関連する疾患または障害は、筋ジストロフィーである。ある特定の実施形態では、該筋ジストロフィーは、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) である。

【0431】

ある特定の実施形態では、ある方法は、DUX4 核酸に相補的な核酸塩基配列をそのいずれもが有するオリゴマー化合物、修飾オリゴヌクレオチド、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤を対象に投与することを含む。ある特定の実施形態では、該対象は、DUX4 に関連する疾患または障害を有するかまたはそれを発症するリスクがある。ある特定の実施形態では、該対象は、神経筋障害を有する。ある特定の実施形態では、該対象は、筋ジストロフィーを有する。ある特定の実施形態では、該対象は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) を有する。

【0432】

ある特定の実施形態では、DUX4 に関連する疾患または障害を治療する方法は、DUX4 核酸に相補的な核酸塩基配列をそのいずれもが有するオリゴマー化合物、修飾オリゴヌクレオチド、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤を対象に投与することを含む。ある特定の実施形態では、該対象は、DUX4 に関連する疾患または障害を有するかまたはそれを発症するリスクがある。ある特定の実施形態では、該対象は、神経筋障害を有する。ある特定の実施形態では、該対象は、筋ジストロフィーを有する。ある特定の実施形態では、該対象は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) を有する。ある特定の実施形態では、該 DUX4 に関連する疾患または障害の少なくとも 1 つの症状または特徴が改善される。ある特定の実施形態では、該少なくとも 1 つの症状または特徴は、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下または筋肉消耗であり、これは、体幹及び下肢の筋肉に進行する可能性がある。ある特定の実施形態では、該オリゴマー化合物、該修飾オリゴヌクレオチド、該オリゴマー二重鎖、または該アンチセンス剤の該対象への投与は、顔面、肩甲骨、及び／または上腕骨筋の筋力低下もしくは筋肉消耗の発症もしくは進行を減少もしくは遅延させるか、またはさらに筋力低下もしくは筋肉消耗の体幹及び／または下肢の筋肉への発症もしくは進行を減少もしくは遅延させる。

【0433】

ある特定の実施形態では、細胞において DUX4 核酸、例えば、RNA の発現を低減する方法、または DUX4 タンパク質の発現を低減する方法は、該細胞を、DUX4 核酸に相補的な核酸塩基配列をそのいずれもが有するオリゴマー化合物、修飾オリゴヌクレオチド、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤と接触させることを含む。ある特定の実施形態では、該対象は、DUX4 に関連する疾患または障害を有するかまたはそれを発症するリスクがある。ある特定の実施形態では、該対象は、神経筋障害を有するかまたはそれを発症するリスクがある。ある特定の実施形態では、該対象は、筋ジストロフィーを有するかまたはそれを発症するリスクがある。ある特定の実施形態では、該対象は、顔面肩甲

10

20

30

40

50

上腕型筋ジストロフィー（F S H D）を有するかまたはそれを発症するリスクがある。ある特定の実施形態では、該細胞は、筋細胞である。ある特定の実施形態では、該細胞は、ヒト細胞である。

【0434】

ある特定の実施形態では、D U X 4に関連する疾患もしくは障害の治療に使用するため、またはD U X 4に関連する疾患もしくは障害を治療するための薬剤の製造に使用するための、D U X 4核酸に相補的な核酸塩基配列をそのいずれもが有するオリゴマー化合物、修飾オリゴヌクレオチド、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤を示す。ある特定の実施形態では、該D U X 4に関連する疾患または障害は、神経筋障害である。ある特定の実施形態では、該D U X 4に関連する疾患または障害は、筋ジストロフィーである。ある特定の実施形態では、該D U X 4に関連する疾患または障害は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（F S H D）である。

10

【0435】

本明細書に記載の方法または使用のいずれかにおいて、該オリゴマー化合物、該修飾オリゴヌクレオチド、該オリゴマー二重鎖、または該アンチセンス剤は、本明細書に記載のいずれであってもよい。

【0436】

V I . 特定の医薬組成物

ある特定の実施形態では、1つ以上のオリゴマー化合物を含む医薬組成物を本明細書に提供する。ある特定の実施形態では、該1つ以上のオリゴマー化合物は、各々修飾オリゴヌクレオチドからなる。ある特定の実施形態では、該医薬組成物は、医薬的に許容される希釈剤または担体を含む。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、滅菌生理食塩水及び1つ以上のオリゴマー化合物を含むかまたはそれらからなる。ある特定の実施形態では、該滅菌生理食塩水は、医薬品グレードの生理食塩水である。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及び滅菌水を含むかまたはそれらからなる。ある特定の実施形態では、該滅菌水は、医薬品グレードの水である。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及びリン酸緩衝生理食塩水（P B S）を含むかまたはそれらからなる。ある特定の実施形態では、該滅菌P B Sは、医薬品グレードのP B Sである。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及び人工脳脊髄液（「人工C S F」または「a C S F」）を含むかまたはそれらからなる。ある特定の実施形態では、該人工脳脊髄液は、医薬品グレードである。

20

30

【0437】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、修飾オリゴヌクレオチド及び人工脳脊髄液（a C S F）を含む。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、修飾オリゴヌクレオチド及び人工脳脊髄液からなる。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、修飾オリゴヌクレオチド及び人工脳脊髄液から本質的になる。ある特定の実施形態では、該人工脳脊髄液は、医薬品グレードである。

【0438】

ある特定の実施形態では、a C S Fは、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リン酸二水素ナトリウム二水和物、無水二塩基性リン酸ナトリウム、塩化カルシウム二水和物、及び塩化マグネシウム六水和物を含む。ある特定の実施形態では、a C S F溶液のp Hは、適切なp H調整剤によって、例えば、塩酸等の酸及び水酸化ナトリウム等のアルカリによって、約7.1～7.3の範囲、または約7.2に調節される。

40

【0439】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及び1つ以上の賦形剤を含む。ある特定の実施形態では、賦形剤は、水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミラーゼ、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース及びポリビニルピロリドンから選択される。

【0440】

50

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、医薬組成物または製剤の調製のために医薬的に許容される活性及び／または不活性物質と混合されてもよい。医薬組成物を製剤化するための組成物及び方法は、投与経路、疾患の程度、または投与される用量が挙げられるがこれらに限定されないいくつかの基準に依存する。

#### 【0441】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物を含む医薬組成物は、該オリゴマー化合物の任意の医薬的に許容される塩、該オリゴマー化合物のエステル、またはかかるエステルの塩を包含する。ある特定の実施形態では、1つ以上のオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を含む医薬組成物は、ヒトを含めた動物への投与時に、生物学的に活性な代謝産物またはその残渣を（直接的または間接的に）提供することが可能である。従って、例えば、本開示は、オリゴマー化合物の医薬的に許容される塩、プロドラッグ、かかるプロドラッグの医薬的に許容される塩、及び他の生物学的等価物にも関する。ある特定の実施形態では、医薬的に許容される塩は、1価または2価の無機塩等の無機塩を含む。適切な医薬的に許容される塩としては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウム塩が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、プロドラッグは、オリゴヌクレオチドに結合している1つ以上のコンジュゲート基を含み、該コンジュゲート基は、体内で内在性ヌクレアーゼによって切断される。

10

#### 【0442】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、凍結乾燥され、ナトリウム塩として単離される。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物のナトリウム塩は、医薬的に許容される希釈剤と混合される。ある特定の実施形態では、該医薬的に許容される希釈剤は、滅菌生理食塩水、滅菌水、PBS、またはaCSFを含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物のナトリウム塩は、PBSと混合される。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物のナトリウム塩は、aCSFと混合される。

20

#### 【0443】

脂質部分は、様々な方法で核酸療法において使用されている。ある特定のかかる方法において、オリゴマー化合物等の核酸は、カチオン性脂質と中性脂質との混合物でできた予め形成されたりポソームまたはリポプレックスに導入される。ある特定の方法において、モノまたはポリカチオン性脂質とのDNA複合体は、中性脂質の非存在下で形成される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、特定の細胞または組織への薬剤の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、脂肪組織への薬剤の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、筋組織への薬剤の分布を増加させるように選択される。

30

#### 【0444】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、送達系を含む。送達系の例としては、リポソーム及びエマルジョンが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の送達系は、疎水性化合物を含むものを含めたある特定の医薬組成物の調製に有用である。ある特定の実施形態では、ジメチルスルホキシド等のある特定の有機溶媒が用いられる。

#### 【0445】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、特定の組織または細胞型に本発明の1つ以上の薬剤を送達するように設計された1つ以上の組織特異的送達分子を含む。例えば、ある特定の実施形態では、医薬組成物は、組織特異的抗体でコーティングされたりポソームを含む。

40

#### 【0446】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、共溶媒系を含む。ある特定のかかる共溶媒系は、例えば、ベンジルアルコール、非極性界面活性剤、水混和性有機ポリマー、及び水相を含む。ある特定の実施形態では、かかる共溶媒系は、疎水性化合物に使用される。かかる共溶媒系の非限定的な例はVPD共溶媒系であり、これは、3% w/vのベンジルアルコール、8% w/vの非極性界面活性剤Polysorbate 80（商標）及び65% w/vのポリエチレングリコール300を含む無水エタノールの溶液である。かかる共

50

溶媒系の割合は、それらの溶解性及び毒性を著しく変えることがなければ、大幅に変化させてもよい。さらに、共溶媒成分の同一性は、変化してもよく、例えば、他の界面活性剤を Polysorbate 80（商標）の代わりに使用してもよく、ポリエチレングリコールの画分サイズを変化させてもよく、他の生体適合性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドンでポリエチレングリコールを置き換えてもよく、他の糖または多糖類でデキストロースを置換してもよい。

#### 【0447】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、経口投与用に調製される。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、頬側投与用に調製される。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、注射（例えば、静脈内、皮下、筋肉内、髄腔内（IT）、脳室内（ICV）等）による投与用に調製される。ある特定のかかる実施形態では、医薬組成物は、担体を含み、水溶液、例えば、水または生理学的に適合する緩衝液、例えば、ハanks溶液、リンガー溶液、もしくは生理食塩水の緩衝液で製剤化される。ある特定の実施形態では、他の成分が含まれる（例えば、溶解性を補助するか、または防腐剤として役立つ成分）。ある特定の実施形態では、注射可能な懸濁液は、適切な液体担体、懸濁剤等を使用して調製される。注射用のある特定の医薬組成物は、単位剤形、例えば、アンプルまたは複数回投与容器に含まれる。注射用のある特定の医薬組成物は、油性または水性媒体の懸濁液、溶液、またはエマルジョンであり、懸濁剤、安定化剤、及び／または分散剤等の製剤化剤を含み得る。注射用の医薬組成物における使用に適したある特定の溶媒としては、親油性溶媒及び脂肪油、例えば、ゴマ油、合成脂肪酸エステル、例えば、オレイン酸エチルまたはトリグリセリド、及びリポソームが挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0448】

ある特定の条件下では、本明細書で開示するある特定の化合物は、酸として機能する。かかる化合物は、プロトン化された（遊離酸）形態で、またはイオン化されてカチオンと会合する（塩）形態で描写または記載され得るが、かかる化合物の水溶液は、かかる形態の間で平衡状態で存在する。例えば、水溶液中のオリゴヌクレオチドのホスホジエステル結合は、遊離酸、アニオン及び塩形態の間で平衡状態で存在する。別段の指示がない限り、本明細書に開示する化合物は、すべてのかかる形態を含むことが意図される。さらに、ある特定のオリゴヌクレオチドは、いくつかのかかる結合を有し、その各々は均衡状態にある。従って、溶液中のオリゴヌクレオチドは、複数の位置ですべて均衡状態である形態の集合として存在する。「オリゴヌクレオチド」という用語は、すべてのかかる形態を含むことを意図する。図示される構造は、必然的に単一の形態を示す。それにもかかわらず、別段の指示がない限り、かかる図面は、同様に対応する形態を含むことを意図する。本明細書では、「またはその医薬的に許容される塩」という用語が後に続く化合物の遊離酸を示す構造は、完全または部分的にプロトン化され得る／脱プロトン化され得る／カチオンまたはカチオンの組み合わせと会合し得るすべてのかかる形態を明示的に含む。ある特定の実施形態では、1つ以上の特定のカチオンが特定される。該カチオンとしては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、「またはその医薬的に許容される塩」という用語が後に続く化合物の遊離酸を示す構造は、完全または部分的にプロトン化され得る／脱プロトン化され得る／ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムから選択される1つ以上のカチオンと会合し得るすべての形態を明示的に含む。

#### 【0449】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、ナトリウムとともに水溶液に含まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、カリウムとともに水溶液に含まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、PBSに含まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、水に含まれる。ある特定のかかる実施形態では、該溶液のpHは、所望のpHに達するまでNaOH及び／またはHClで調整される。

10

20

30

40

50

## 【0450】

本明細書では、ある特定の用量が記載される。用量は、用量単位の形態であり得る。明確にするため、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物のミリグラム単位での用量（または用量単位）は、当該修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物の遊離酸形態の質量を示す。上記のように、水溶液中では、該遊離酸は、アニオン形態及び塩形態と平衡状態にある。しかしながら、用量を計算する目的のため、該修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、無溶媒、無酢酸ナトリウム、無水、遊離酸として存在すると仮定される。

## 【0451】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物が、ナトリウムを含む溶液（例えば、生理食塩水）に含まれる場合、該修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、部分的または完全に脱プロトン化され、ナトリウムイオンと会合している可能性がある。しかしながら、このプロトンの質量は用量の重量に考慮され、ナトリウムイオンの質量は用量の重量に考慮されない。従って、例えば、10mgの化合物番号541106または化合物番号613801の用量または用量単位は、重量が10mgの完全にプロトン化された分子の数と等しい。これは、10.58mgの無溶媒、無酢酸ナトリウム、無水のナトリウム化された（sodiated）化合物番号541106、または10.61mgの無溶媒、無酢酸ナトリウム、無水のナトリウム化された化合物番号613801に相当する。

## 【0452】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物が、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムを含む溶液、例えば、aCSFに含まれる場合、該修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、部分的または完全に脱プロトン化され、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及び／またはマグネシウムと会合している可能性がある。しかしながら、このプロトンの質量は用量の重量に考慮され、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムイオンの質量は用量の重量に考慮されない。

## 【0453】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物がコンジュゲート基を含む場合、該コンジュゲート基の質量は、かかるオリゴマー化合物の用量を計算する際に含まれ得る。該コンジュゲート基が酸も有する場合、該コンジュゲート基も同様に、用量を計算する目的で完全にプロトン化されていると仮定される。

## 【0454】

## V I I . 特定のホットスポット領域

## 1. 配列番号1の核酸塩基2697~2730

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2697~2730は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基2697~2730の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5または3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：e e e e e d d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

10

20

30

40

50

## 【0455】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

## 【0456】

配列番号24、98、318～320、359～361、398～400、438～440、852、及び857の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基2697～2730の内部に相補的である。

## 【0457】

化合物541110、541187、1099107～1099118、1582921、及び1582472は、配列番号1の核酸塩基2697～2730の内部に相補的である。

10

## 【0458】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2697～2730の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも27%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2697～2730の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均56%のDUX4 RNAの低減を達成する。

## 【0459】

## 2. 配列番号1の核酸塩基2756～2778

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2756～2778は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基2756～2778の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): k k k d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

20

## 【0460】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

30

## 【0461】

配列番号323、324、364、404、443、及び444の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基2756～2778の内部に相補的である。

## 【0462】

化合物1099128～1099133は、配列番号1の核酸塩基2756～2778の内部に相補的である。

## 【0463】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2756～2778の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも25%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2756～2778の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均57%のDUX4 RNAの低減を達成する。

40

## 【0464】

3. 配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の核酸塩基1330～1361

ある特定の実施形態では、配列番号1の4103～4134及び／または配列番号2の1330～1361は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の

50

核酸塩基 1330～1361の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5または3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): e e e e e d d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

#### 【0465】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

#### 【0466】

配列番号73、148、327、367、407、408、208、及び447の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の核酸塩基1330～1361の内部に相補的である。

#### 【0467】

化合物541160、541238、613853、及び1099147～1099151は、配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の核酸塩基1330～1361の内部に相補的である。

#### 【0468】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の核酸塩基1330～1361の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも14%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4103～4134及び／または配列番号2の核酸塩基1330～1361の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均52%のDUX4 RNAの低減を達成する。

#### 【0469】

##### 4. 配列番号1の核酸塩基4503～4522

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4503～4522は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4503～4522の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

#### 【0470】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

#### 【0471】

配列番号299、340、379、及び420～421の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4503～4522の内部に相補的である。

10

20

30

40

50

## 【0472】

化合物1098903～1098907は、配列番号1の核酸塩基4503～4522の内部に相補的である。

## 【0473】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4503～4522の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも34%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4503～4522の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均55%のDUX4 RNAの低減を達成する。

## 【0474】

## 5. 配列番号1の核酸塩基4509～4530

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4509～4530は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4509～4530の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：kkk d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

## 【0475】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

## 【0476】

配列番号300～301、341～342、380、422、及び1002の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4509～4530の内部に相補的である。

## 【0477】

化合物1098908～1098913及び1582464は、配列番号1の核酸塩基4509～4530の内部に相補的である。

## 【0478】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4509～4530の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも43%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4509～4530の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均61%のDUX4 RNAの低減を達成する。

## 【0479】

6. 配列番号1の核酸塩基4828～4850及び／または配列番号2の核酸塩基1693～1710

ある特定の実施形態では、配列番号1の4828～4850及び／または配列番号2の1693～1710は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4828～4850及び／または配列番号2の核酸塩基1693～1710の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：kkk d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

10

20

30

40

50

## 【0480】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

## 【0481】

配列番号331、332、370、371、412、413、451、及び452の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4828～4850及び／または配列番号2の核酸塩基1693～1710の内部に相補的である。

## 【0482】

化合物1099177～1099184は、配列番号1の核酸塩基4828～4850及び／または配列番号2の核酸塩基1693～1710の内部に相補的である。

10

## 【0483】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4828～4850及び／または配列番号2の核酸塩基1693～1710の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも44%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4828～4850及び／または配列番号2の核酸塩基1693～1710の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均55%のDUX4 RNAの低減を達成する。

## 【0484】

## 7. 配列番号2の核酸塩基768～787

20

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基768～787は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号2の核酸塩基768～787の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：kkkddddd kkkであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

## 【0485】

30

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

## 【0486】

配列番号326、366、406、446、及び777の核酸塩基配列は、配列番号2の核酸塩基768～787の内部に相補的である。

## 【0487】

化合物1099138～1099141及び1582913は、配列番号2の核酸塩基768～787の内部に相補的である。

## 【0488】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基768～787の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも53%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基768～787の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均65%のDUX4 RNAの低減を達成する。

40

## 【0489】

## 8. 配列番号1の核酸塩基2732～2760

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2732～2760は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基2732～2760の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチ

50

ドは、20 核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5 または3-10-3 ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEt ギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5' から3' へ): e e e e e d d d d d d d d d e e e e e であり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE 糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5' から3' へ): k k k d d d d d d d d d k k k であり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt 糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

10

#### 【0490】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

#### 【0491】

配列番号100、186、321、362、645、719、791、796、867、873、943、946、及び1019の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基2732~2760の内部に相補的である。

#### 【0492】

化合物541189、613830、1099121~1099122、1582534~1582535、1582543、1582548~1582549、1582551、1582557、1582566、及び1582568は、配列番号1の核酸塩基2732~2760の内部に相補的である。

20

#### 【0493】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2732~2760の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも13%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2732~2760の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均69%のDUX4 RNAの低減を達成する。

#### 【0494】

9. 配列番号1の核酸塩基2783~2806及び／または配列番号2の核酸塩基10~33

30

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2783~2806及び／または配列番号2の核酸塩基10~33は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基2783~2806及び／または配列番号2の核酸塩基10~33の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16 核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEt ギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5' から3' へ): k k k d d d d d d d d d k k k であり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt 糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

40

#### 【0495】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

#### 【0496】

配列番号802、880、1088~1090の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基2783~2806及び／または配列番号2の核酸塩基10~33の内部に相補的である。

#### 【0497】

50

化合物 1582611～1582612 及び 1604089～1604091 は、配列番号 1 の核酸塩基 2783～2806 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 10～33 の内部に相補的である。

【0498】

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 2783～2806 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 10～33 の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse H アッセイにおいて少なくとも 71% の DUX4 RNA の低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 2783～2806 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 10～33 の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse H アッセイにおいて平均 79% の DUX4 RNA の低減を達成する。

10

【0499】

10. 配列番号 1 の核酸塩基 2833～2853 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 60～80

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 2833～2853 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 60～80 は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 の核酸塩基 2833～2853 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 60～80 の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16 核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEt ギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5' から 3' へ）：k k k d d d d d d d d d d k k k であり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt 糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

20

【0500】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

【0501】

配列番号 668、742、815、893、966、及び 1040 の核酸塩基配列は、配列番号 1 の核酸塩基 2833～2853 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 60～80 の内部に相補的である。

30

【0502】

化合物 1582702～1582707 は、配列番号 1 の核酸塩基 2833～2853 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 60～80 の内部に相補的である。

【0503】

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 2833～2853 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 60～80 の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse H アッセイにおいて少なくとも 59% の DUX4 RNA の低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 2833～2853 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 60～80 の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse H アッセイにおいて平均 79% の DUX4 RNA の低減を達成する。

40

【0504】

11. 配列番号 1 の核酸塩基 2953～2975 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 180～202

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 2953～2975 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 180～202 は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 の核酸塩基 2953～2975 及び／または配列番号 2 の核酸塩基 180～202 の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16 核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEt ギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチー

50

フは（5'から3'へ）：k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、c E t糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

【0505】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

【0506】

配列番号673、747～748、822、898、971、及び1045の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基2953～2975及び／または配列番号2の核酸塩基180～202の内部に相補的である。

10

【0507】

化合物1582734～1582740は、配列番号1の核酸塩基2953～2975及び／または配列番号2の核酸塩基180～202の内部に相補的である。

【0508】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2953～2975及び／または配列番号2の核酸塩基180～202の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも73%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2953～2975及び／または配列番号2の核酸塩基180～202の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均78%のDUX4 RNAの低減を達成する。

20

【0509】

12. 配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5または3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、c E tギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：e e e e e d d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、c E t糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

30

40

【0510】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

【0511】

配列番号39、678～681、753～755、827～829、903～905、976～978、1050～1052、及び1135～1136の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363の内部に相補的である。

【0512】

化合物541125、1582765～1582783、及び1604144～160

50

4145は、配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363の内部に相補的である。

【0513】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも30%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3097～3136及び／または配列番号2の核酸塩基324～363の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均76%のDUX4 RNAの低減を達成する。

10

【0514】

13. 配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5または3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): e e e e e d d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

20

【0515】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

30

【0516】

配列番号117、684、758、1056、及び1141～1144の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437の内部に相補的である。

【0517】

化合物541206、1582800～1582802、及び1604150～1604153は、配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437の内部に相補的である。

40

【0518】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも53%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3174～3210及び／または配列番号2の核酸塩基401～437の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均84%のDUX4 RNAの低減を達成する。

【0519】

14. 配列番号1の核酸塩基3361～3400及び／または配列番号2の核酸塩基5

50

8 8 ~ 6 2 7

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3361~3400及び／または配列番号2の核酸塩基588~627は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基3361~3400及び／または配列番号2の核酸塩基588~627の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5または3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): e e e e d d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは(5'から3'へ): k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

10

【0520】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

20

【0521】

配列番号123、695~697、769~771、843、844、919、920、992、993、1066、及び1067の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基3361~3400及び／または配列番号2の核酸塩基588~627の内部に相補的である。

【0522】

化合物541212、1582863~1582873、及び1582875~1582877は、配列番号1の核酸塩基3361~3400及び／または配列番号2の核酸塩基588~627の内部に相補的である。

【0523】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3361~3400及び／または配列番号2の核酸塩基588~627の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも37%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3361~3400及び／または配列番号2の核酸塩基588~627の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均70%のDUX4 RNAの低減を達成する。

30

【0524】

15. 配列番号1の核酸塩基3883~3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110~1153

40

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3883~3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110~1153は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基3883~3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110~1153の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5または3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの

50

糖モチーフは（5'から3'へ）：e e e e e d d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：k k k d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、c E t糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

【0525】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

【0526】

配列番号67、141、646～647、720～721、793～794、870～871、945、947～948、及び1020～1021の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基3883～3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110～1153の内部に相補的である。

【0527】

化合物541153、541230、1582550、1582552～1582556、及び1582558～1582564は、配列番号1の核酸塩基3883～3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110～1153の内部に相補的である。

【0528】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3883～3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110～1153の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも27%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3883～3926及び／または配列番号2の核酸塩基1110～1153の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均71%のDUX4 RNAの低減を達成する。

【0529】

16．配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、c E tギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：k k k d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、c E t糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

【0530】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。

【0531】

配列番号652、726、799、876、953、1026、及び1079の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256の内部に相補的である。

【0532】

化合物1582589～1582594及び1604080は、配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256の内部に相補的である。

10

20

30

40

50

## 【0533】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも65%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4007～4029及び／または配列番号2の核酸塩基1234～1256の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均82%のDUX4 RNAの低減を達成する。

## 【0534】

17. 配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559 10

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559の内部に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、16核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5または3-10-3ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：e e e e d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「e」は、2'-MOE糖部分を表す。ある特定の実施形態では、これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：k k k d d d d d d d d d d k k kであり、ここで、各「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、各「k」は、cEt糖部分を表す。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。 20

## 【0535】

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結される。 30

## 【0536】

配列番号163、658、732、883、957、1031、及び1105～1112の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559の内部に相補的である。

## 【0537】

化合物541256、1582645～1582649、及び1604114～1604121は、配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559の内部に相補的である。

## 【0538】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて少なくとも63%のDUX4 RNAの低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4667～4694及び／または配列番号2の核酸塩基1532～1559の内部に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準インビトロRNAse Hアッセイにおいて平均83%のDUX4 RNAの低減を達成する。 40

## 【0539】

18. 配列番号1の核酸塩基2955～2984及び／または配列番号2の核酸塩基182～211 50

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基2955～2984及び／または配列

10

ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド）のヌクレオシドは、ホスホジエステルまたはホスホロチオエートヌクレオシド間結合から選択されるヌクレオシド間結合によって連結される。

## 20

化合物 1588626 及び 1588623 (RNAi 剤) は、配列番号 1 の核酸塩基 2955 ~ 2984 及び / または配列番号 2 の核酸塩基 182 ~ 211 の内部に相補的である。

## 30

## 40

## 50



て具体的に記載されているが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物を説明するためにのみ役立ち、それを限定することを意図しない。本出願に列挙される参考文献、GenBankアクセッション番号、ENSEMBL識別番号等の各々は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

#### 【0561】

本出願に添付される配列表は、必要に応じて各配列を「RNA」または「DNA」のいずれかと特定しているが、実際には、それらの配列は、化学修飾の任意の組み合わせで修飾され得る。当業者には、修飾オリゴヌクレオチドを記載するための「RNA」または「DNA」としての指定が、ある特定の例では任意であることが容易に理解されよう。例えば、2'-OH糖部分及びチミン塩基を含むヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、修飾糖（DNAの1つの2'-Hの代わりに2'-OH）を有するDNAとして、または修飾塩基（RNAのウラシルの代わりにチミン（メチル化ウラシル））を有するRNAとして記載することができる。従って、配列表中のものが挙げられるがこれらに限定されない本明細書に提供される核酸配列は、修飾核酸塩基を有するかかかるとは限らない核酸が挙げられるがこれらに限定されない天然または修飾RNA及び／またはDNAの任意の組み合わせを含む核酸を包含することを意図している。さらなる例として、限定することなく、核酸塩基配列「ATCGATCG」を有するオリゴマー化合物は、修飾されているかされていないかにかかわらず、これらに限定されないが、RNA塩基を含むかかるとは限らない化合物、例えば、配列「AUCGAUCG」を有するものならびにいくつかのDNA塩基及びいくつかのRNA塩基、例えば、「AUCGATCG」を有するもの、ならびに「AT<sup>m</sup>CGAUCG」（<sup>m</sup>Cは、5位にメチル基を含むシトシン塩基を示す）等の他の修飾核酸塩基を有するオリゴマー化合物を含めたかかるとは限らない核酸塩基配列を有する任意のオリゴマー化合物を包含する。

10

20

#### 【0562】

本明細書に記載のある特定の化合物（例えば、修飾オリゴヌクレオチド）は、1つ以上の不斉中心を有し、ひいては絶対立体化学に関して、（R）もしくは（S）として、糖アノマー等の場合にはαもしくはβとして、またはアミノ酸等の場合には（D）もしくは（L）等として定義され得るエナンチオマー、ジアステレオマー、及び他の立体異性体配置を生じる。ある特定の立体異性体配置を有するものとして描写または記載される本明細書に提供される化合物は、示される化合物のみを含む。定義されていない立体化学で描写または記載される本明細書に提供される化合物は、別途指定されない限り、それらのステレオランダム及び光学的に純粋な形態を含めたすべてのかかる可能な異性体を含む。同様に、本明細書における化合物の互変異性体もまた、別段の指示がない限り含まれる。別段の指示がない限り、本明細書に記載の化合物は、対応する塩形態を含むことを意図している。

30

#### 【0563】

本明細書に記載の化合物は、1つ以上の原子が示される元素の非放射性同位体または放射性同位体と置き換えられている変形形態を含む。例えば、水素原子を含む本明細書の化合物は、<sup>1</sup>H水素原子の各々について、考えられるすべての重水素置換を包含する。本明細書における化合物により包含される同位体の置換としては、<sup>1</sup>Hに代わる<sup>2</sup>Hまたは<sup>3</sup>H、<sup>12</sup>Cに代わる<sup>13</sup>Cまたは<sup>14</sup>C、<sup>14</sup>Nに代わる<sup>15</sup>N、<sup>16</sup>Oに代わる<sup>17</sup>Oまたは<sup>18</sup>O、及び<sup>32</sup>Sに代わる<sup>33</sup>S、<sup>34</sup>S、<sup>35</sup>S、または<sup>36</sup>Sが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、非放射性同位体の置換は、治療ツールまたは研究ツールとしての使用に有益である新たな特性をオリゴマー化合物に与え得る。ある特定の実施形態では、放射性同位体の置換は、該化合物を研究目的または診断目的、例えば、画像化に適したものにし得る。

40

#### 【実施例】

#### 【0564】

以下の実施例は、本開示のある特定の実施形態を例証するものであり、限定するものではない。さらに、特定の実施形態が提供される場合、本発明者らは、それらの特定の実施形態の一般的適用を企図している。例えば、特定のモチーフを有するオリゴヌクレオチドの開示は、同じモチーフまたは同様のモチーフを有するさらなるオリゴヌクレオチドへの

50

合理的な支持を提供する。同様に、例えば、特定の高親和性修飾が特定の位置にある場合、同じ位置における他の高親和性修飾も、別段の指示がない限り、適切であると見なされる。

**【 0 5 6 5 】**

実施例 1：5-10-5 MOE 均一ホスホロチオエート修飾型オリゴヌクレオチドがインビトロ、単回投与でヒト DUX4 RNA に与える影響

ヒトDUX4核酸に相補的な修飾オリゴヌクレオチドを設計し、それらの単回投与がインビトロでDUX4 RNAに与える影響を調べた。これらの修飾オリゴヌクレオチドを、同じ培養条件を有する一連の実験で試験した。

**【 0 5 6 6 】**

[illegible]

**【 0 5 6 7 】**

「開始部位」は、標的核酸配列において、修飾オリゴヌクレオチドが相補的である最も 5' 側のヌクレオチドを示す。「終結部位」は、標的核酸配列において、修飾オリゴヌクレオチドが相補的である最も 3' 側のヌクレオチドを示す。以下の表に記載されている各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 (GENBANK アクセッション番号 NC\_000004.12、ヌクレオチド 190171001 から 190187000 まで切断されている)、配列番号 2 (GENBANK アクセッション番号 NM\_001306068.2)、配列番号 3 (GENBANK アクセッション番号 FJ439133.1)、またはこれらの配列番号の任意の組み合わせに 100% 相補的である。「N/A」は、修飾オリゴヌクレオチドがその特定の標的核酸配列に 100% 相補的ではないことを示す。

**【 0 5 6 8 】**

54-2細胞 (Resnick et al., 2019, Cell Reports 29, 1812-1820) を、20% FBS、1  $\mu$ M デキサメタゾン、及び 10 ng/mL ヒト FGF (Promega rhFGF G5071) を含む F10 栄養培地 (Gibco #11550) で培養した。その細胞を1ウェルあたり6,000細胞でプレATINGし、100% コンフルエンスになるようにし、その後培地を1% ウマ血清、10  $\mu$ g/mL インスリン、及び 10  $\mu$ g/mL ホロトランスフェリンを含む F-10 培地に交換し、分化を誘導した。細胞を72時間分化させ、その後修飾オリゴヌクレオチドのトランスフェクションを行った。分化した54-2細胞を、濃度100 nMの修飾オリゴヌクレオチドで、cytofectinを使用して処理した。約24時間の処理期間の後、全RNAを細胞から単離し、DUX4 RNAレベルを定量的リアルタイムRT-PCRによって測定した。DUX4 RNAレベルは、ヒトプライマー・プローブセットRTS3502 (順方向配列 C C C G G C T G A C G T G C A A、本明細書では配列番号11として指定、逆方向配列 A G C C A G A A T T T C A C G G A A G A A C、本明細書では配列番号12として指定、プローブ配列 A G C T C G C T G G C C T C T C T G T G C C、本明細書では配列番号13として指定) によって測定した。DUX4 RNAレベルを、RIBOGREEN (登録商標) で測定した全RNA含有量に対して正規化した。DUX4 RNAの低減を、未処理の対照細胞におけるDUX4 RNAの量に対するDUX4 RNAパーセント (% UTC) として以下の表に示す。「+」がつけられている値は、その修飾オリゴヌクレオチドが、このプライマー・プローブセットのアンプリコン領域に相

補的であることを示す。追加のアッセイを使用して、アンプリコン領域に相補的な修飾オリゴヌクレオチドの効力と有効性を測定してもよい。

【0569】

本実施例に記載する個々の実験分析は、表の「分析ID」と標識された列のA～Bの文字IDによって識別されている。

【0570】

【表1-1】

表1

分化した54-2細胞における均一ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する5-10-5 MOE  
ギャップマーによるDUX4 RNAの低減

| 化合物<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>1<br>終結<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終結<br>部位 | 配列(5'から3')            | DUX4<br>(%<br>UTC) | 分析<br>ID | 配列<br>番号 |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|--------------------|----------|----------|
| 541106    | 2616                      | 2635                      | N/A                       | N/A                       | CCAGCCGCCCTTGTAAGGC   | 89                 | A        | 20       |
| 541107    | 2642                      | 2661                      | N/A                       | N/A                       | GCCCGGACAGCCAGCCAGCC  | 71                 | A        | 21       |
| 541108    | 2664                      | 2683                      | N/A                       | N/A                       | GGCAGGTGCAGCCAGGAGGC  | 72                 | A        | 22       |
| 541109    | 2686                      | 2705                      | N/A                       | N/A                       | CCTCAGCCGGAAGTGTGCACT | 51                 | A        | 23       |
| 541110    | 2708                      | 2727                      | N/A                       | N/A                       | GAGGCCGGCGGGCTCCCGTG  | 67                 | A        | 24       |
| 541111    | 2730                      | 2749                      | N/A                       | N/A                       | CACGGACGGACGCGGGCAGA  | 66                 | A        | 25       |
| 541112    | 2752                      | 2771                      | N/A                       | N/A                       | CGGTGAGCCCCGGCCGGAAT  | 64                 | A        | 26       |
| 541113    | 2808                      | 2827                      | 35                        | 54                        | TCGTCCCCGGGCTTCCGCGG  | 69                 | A        | 27       |
| 541114    | 2830                      | 2849                      | 57                        | 76                        | AAACGAGTCTCCGTCGCCGT  | 52                 | A        | 28       |
| 541115    | 2866                      | 2885                      | 93                        | 112                       | AGCAGGCTCGCAGGGCCTCG  | 103                | A        | 29       |
| 541116    | 2897                      | 2916                      | 124                       | 143                       | GTGGCGATGCCCGGGTACGG  | 67                 | A        | 30       |
| 541117    | 2919                      | 2938                      | 146                       | 165                       | GGCCTGGGCCAGCCGTTCTC  | 48                 | A        | 31       |
| 541118    | 2941                      | 2960                      | 168                       | 187                       | CCCTGGGCTCCGGAATGCCG  | 72                 | A        | 32       |
| 541119    | 2963                      | 2982                      | 190                       | 209                       | TCATTCTGAAACCAAATCTG  | 93                 | A        | 33       |
| 541120    | 2985                      | 3004                      | 212                       | 231                       | CTGCCTCAGCTGGCGTGACC  | 56                 | A        | 34       |
| 541121    | 3007                      | 3026                      | 234                       | 253                       | AGGGCCGAGATTCCCGCCGG  | 55                 | A        | 35       |
| 541122    | 3035                      | 3054                      | 262                       | 281                       | CCTTCTGGCGGGCCGCGTCT  | 83                 | A        | 36       |
| 541123    | 3057                      | 3076                      | 284                       | 303                       | GACGGCGGTCCGCTTTCGCC  | 76                 | A        | 37       |
| 541124    | 3085                      | 3104                      | 312                       | 331                       | GGAGGAGCAGGGCGGTCTGG  | 113                | A        | 38       |
| 541125    | 3107                      | 3126                      | 334                       | 353                       | AAGCGATCCTTCTCAAAGGC  | 70                 | A        | 39       |
| 541126    | 3129                      | 3148                      | 356                       | 375                       | CTCCCGGGCGGCGATGCCTG  | 66                 | A        | 40       |
| 541127    | 3151                      | 3170                      | 378                       | 397                       | GGCCCGTCTCTCTGGCCAGC  | 64                 | A        | 41       |
| 541128    | 3173                      | 3192                      | 400                       | 419                       | ATCTGAATCCTGGACTCCGG  | 63                 | A        | 42       |
| 541129    | 3195                      | 3214                      | 422                       | 441                       | GGCCCTTCGATTCTGAAACC  | 61                 | A        | 43       |
| 541130    | 3217                      | 3236                      | 444                       | 463                       | TGCCACCCTGTCCCGGGTGC  | 77                 | A        | 44       |
| 541131    | 3239                      | 3258                      | 466                       | 485                       | CCGCTGCCTGCGCGGGCGC   | 83                 | A        | 45       |
| 541132    | 3290                      | 3309                      | 517                       | 536                       | GCGACCCACGAGGGAGCAGG  | 93                 | A        | 46       |
| 541133    | 3312                      | 3331                      | 539                       | 558                       | CCACGCGCCGGTGTGGGCGA  | 82                 | A        | 47       |
| 541134    | 3352                      | 3371                      | 579                       | 598                       | CAGGCGCGCAGGGCACGTGG  | 79                 | A        | 48       |
| 541135    | 3385                      | 3404                      | 612                       | 631                       | CCTGGCTCACGAAAGCCCCC  | 51                 | A        | 49       |
| 541136    | 3420                      | 3439                      | 647                       | 666                       | CTGGCTGGGCTGCAGCGCGG  | 59                 | A        | 50       |

【0571】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

|        |      |      |      |      |                       |     |   |    |
|--------|------|------|------|------|-----------------------|-----|---|----|
| 541137 | 3442 | 3461 | 669  | 688  | AGATCCCCCTCTGCCGGCGCG | 65  | A | 51 |
| 541138 | 3472 | 3491 | 699  | 718  | CGAAATCCCCGCGCGCCGGG  | 79  | A | 52 |
| 541139 | 3502 | 3521 | 729  | 748  | CCCCGTCCGGAGGAGCCGGG  | 90  | A | 53 |
| 541140 | N/A  | N/A  | 756  | 775  | AGCGAGGAGCCTGAGGGTGG  | 83  | A | 54 |
| 541141 | 3551 | 3570 | 778  | 797  | CTTTTGCCCGGGTGCGGAGG  | 85  | A | 55 |
| 541142 | 3573 | 3592 | 800  | 819  | CTGCGGGTCCCGGTCTCTCC  | 53  | A | 56 |
| 541143 | 3611 | 3630 | 838  | 857  | GGCTGTGCCACCGCGCAGGG  | 61  | A | 57 |
| 541144 | 3633 | 3652 | 860  | 879  | CGGCCCCGCTTGAGCGGGCC  | 75  | A | 58 |
| 541145 | 3655 | 3674 | 882  | 901  | GCGCAAGCACCCCTTGCCCC  | 67  | A | 59 |
| 541146 | 3678 | 3697 | 905  | 924  | CGGACTCCCCCTGGGACGTGG | 52  | A | 60 |
| 541147 | 3700 | 3719 | 927  | 946  | GACCCCGGCCCCAGCCCCAC  | 99  | A | 61 |
| 541148 | 3747 | 3766 | 974  | 993  | TGGAGCTGCCCCGGCTTGGG  | 62  | A | 62 |
| 541149 | 3795 | 3814 | 1022 | 1041 | CCCCTGCCGCGCGGAGGCGG  | 71  | A | 63 |
| 541150 | 3817 | 3836 | 1044 | 1063 | GCGCCGGGATGCCTTGCATC  | 61  | A | 64 |
| 541151 | 3848 | 3867 | 1075 | 1094 | CAGGGCGCCGGCTCCTGGAG  | 64  | A | 65 |
| 541152 | 3878 | 3897 | 1105 | 1124 | TCCAGCAGCAGGCCGCGAGGG | 61  | A | 66 |
| 541153 | 3900 | 3919 | 1127 | 1146 | CTCCGGGCTCGCCAGGAGCT  | 73  | A | 67 |
| 541154 | 3922 | 3941 | 1149 | 1168 | GAGGTTGCGCCTGCTGCAGA  | 68  | A | 68 |
| 541155 | 3958 | 3977 | 1185 | 1204 | AGGCCTCCAGCTCCCCCGGG  | 57  | A | 69 |
| 541156 | 4016 | 4035 | 1243 | 1262 | AGCAGAGCCCGGTATTCTTC  | 57  | A | 70 |
| 541157 | 4038 | 4057 | 1265 | 1284 | CCCCGCGTCCTAAAGCTCCT  | 65  | A | 71 |
| 541158 | 4060 | 4079 | 1287 | 1306 | GAACCACCCGACCCCGTCCC  | 89  | A | 72 |
| 541160 | 4104 | 4123 | 1331 | 1350 | CCAGCCAGGTGTTCCCCGCG  | 53  | A | 73 |
| 541161 | 4126 | 4145 | 1353 | 1372 | GCGGAGACACGCCCCCTCCGT | 116 | A | 74 |
| 541162 | 4163 | 4182 | 1390 | 1409 | GGAATCCCAGGCCGGTCAGC  | 106 | A | 75 |
| 541163 | 4185 | 4204 | 1412 | 1431 | CCGGGCCTAGACCTAGAAGG  | 95  | A | 76 |
| 541164 | N/A  | N/A  | 1434 | 1453 | CTCCGCGGTGTGGAGTCTCT  | 71  | A | 77 |
| 541165 | N/A  | N/A  | 1456 | 1475 | TGCCCAGGAAAGAATGGCAG  | 86  | A | 78 |
| 541166 | 4251 | 4270 | 1478 | 1497 | GCCGGCTCTGGGATCCCCGG  | 68  | A | 79 |
| 541167 | 4284 | 4303 | N/A  | N/A  | TGCGCAGTAGGCGGCCACC   | 65  | A | 80 |
| 541168 | 4306 | 4325 | N/A  | N/A  | CGGCTGCCCGCAAACCCGCG  | 58  | A | 81 |
| 541169 | 4328 | 4347 | N/A  | N/A  | CGGGCTGCTCCACAGCCCA   | 85  | A | 82 |
| 541170 | 4350 | 4369 | N/A  | N/A  | GGAGAGGCAGGAGAGCTCTG  | 57  | A | 83 |
| 541171 | 4439 | 4458 | N/A  | N/A  | GGTCTCCACCCAGCCAGGG   | 66  | A | 84 |
| 541172 | 4481 | 4500 | N/A  | N/A  | AGGCCCGGACGCTGCGCGGG  | 73  | A | 85 |
| 541174 | 4535 | 4554 | N/A  | N/A  | GGCGGGCGACGGTGGCGCGG  | 66  | A | 86 |
| 541176 | 4598 | 4617 | N/A  | N/A  | AGGTATGCTTTTGACCGCCA  | 50  | A | 87 |
| 541177 | 4620 | 4639 | N/A  | N/A  | GGAAGCGGGCAAAGACAGAC  | 95  | A | 88 |
| 541178 | 4642 | 4661 | N/A  | N/A  | GCACTGCGCGCAGGTCTAGC  | 66  | A | 89 |
| 541179 | 4677 | 4696 | 1542 | 1561 | GGCCAGCGAGCTCCCTTGCA  | 48† | A | 90 |

【 0 5 7 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

|        |      |      |      |      |                       |     |   |     |
|--------|------|------|------|------|-----------------------|-----|---|-----|
| 541180 | 4699 | 4718 | 1564 | 1583 | CGGAAGAACAAGGGCACAGA  | 52† | A | 91  |
| 541181 | 4743 | 4762 | 1608 | 1627 | AGACAGCGTCGGAAGGTGGG  | 69  | A | 92  |
| 541182 | 4765 | 4784 | 1630 | 1649 | TAACCTAATCCAGGTTTGC   | 56  | A | 93  |
| 541183 | 4787 | 4806 | 1652 | 1671 | TGAACTAATCATCCAGGAGA  | 54  | A | 94  |
| 541184 | 2627 | 2646 | N/A  | N/A  | CAGCCAGCCAGCCAGCCGCC  | 66  | B | 95  |
| 541185 | 2653 | 2672 | N/A  | N/A  | CCAGGAGGCCTGCCCCGACA  | 65  | B | 96  |
| 541186 | 2675 | 2694 | N/A  | N/A  | CTGTGCACTGCGGCAGGTGC  | 63  | B | 97  |
| 541187 | 2697 | 2716 | N/A  | N/A  | GCTCCCGTGACCTCAGCCG   | 56  | B | 98  |
| 541188 | 2719 | 2738 | N/A  | N/A  | GCGGGCAGAGAGAGGCCGGC  | 84  | B | 99  |
| 541189 | 2741 | 2760 | N/A  | N/A  | GGCCGGAATTTACGGACGG   | 49  | B | 100 |
| 541190 | 2763 | 2782 | N/A  | N/A  | GAGGGCCATCGCGGTGAGCC  | 66  | B | 101 |
| 541191 | 2819 | 2838 | 46   | 65   | CGTCGCCGTCTCGTCCCCG   | 61  | B | 102 |
| 541192 | 2855 | 2874 | 82   | 101  | AGGGCCTCGCTTTGGCTCGG  | 56  | B | 103 |
| 541193 | 2877 | 2896 | 104  | 123  | GTTCCGCTCAAAGCAGGCTC  | 62  | B | 104 |
| 541194 | 2908 | 2927 | 135  | 154  | GCCGTTCTCTGGTGGCGATG  | 53  | B | 105 |
| 541195 | 2930 | 2949 | 157  | 176  | GGAATGCCGATGGCCTGGGC  | 70  | B | 106 |
| 541196 | 2952 | 2971 | 179  | 198  | CCAAATCTGGACCCTGGGCT  | 59  | B | 107 |
| 541197 | 2974 | 2993 | 201  | 220  | GGCGTGACCTCTCATTTCTGA | 49  | B | 108 |
| 541198 | 2996 | 3015 | 223  | 242  | TCCCGCCGGTGCTGCCTCAG  | 51  | B | 109 |
| 541199 | 3024 | 3043 | 251  | 270  | GCCGCGTCTCCCGGGCCAGG  | 53  | B | 110 |
| 541200 | 3046 | 3065 | 273  | 292  | GCTTTCGCCGGCCTTCTGGC  | 51  | B | 111 |
| 541201 | 3068 | 3087 | 295  | 314  | TGGGATCCGGTGACGGCGGT  | 76  | B | 112 |
| 541202 | 3096 | 3115 | 323  | 342  | CTCAAAGGCTCGGAGGAGCA  | 69  | B | 113 |
| 541203 | 3118 | 3137 | 345  | 364  | CGATGCCTGGAAAGCGATCC  | 60  | B | 114 |
| 541204 | 3140 | 3159 | 367  | 386  | CTGGCCAGCTCCTCCCGGGC  | 40  | B | 115 |
| 541205 | 3162 | 3181 | 389  | 408  | GGACTCCGGGAGGCCCGTCT  | 33  | B | 116 |
| 541206 | 3184 | 3203 | 411  | 430  | TCTGAAACCAGATCTGAATC  | 47  | B | 117 |
| 541207 | 3206 | 3225 | 433  | 452  | CCCGGGTGCCTGGCCCTTCG  | 54  | B | 118 |
| 541208 | 3228 | 3247 | 455  | 474  | CGCGGGCGCCCTGCCACCCT  | 59  | B | 119 |
| 541209 | 3276 | 3295 | 503  | 522  | AGCAGGGTGACCCCCGCCGG  | 51  | B | 120 |
| 541210 | 3301 | 3320 | 528  | 547  | TGTGGGCGAAGGCGACCCAC  | 73  | B | 121 |
| 541211 | 3323 | 3342 | 550  | 569  | AGCCCCGTCCCCACGCGCC   | 50  | B | 122 |
| 541212 | 3374 | 3393 | 601  | 620  | AAAGCCCCCTGTGGGAGAGC  | 63  | B | 123 |
| 541213 | 3396 | 3415 | 623  | 642  | GGCCCTCGCTGCCTGGCTCA  | 54  | B | 124 |
| 541214 | 3431 | 3450 | 658  | 677  | GCCGGCGCGGCCTGGCTGGG  | 65  | B | 125 |
| 541215 | 3453 | 3472 | 680  | 699  | GGCAGGTTGGGAGATCCCCT  | 50  | B | 126 |
| 541216 | 3483 | 3502 | 710  | 729  | GGCGGCGTAGGCGAAATCCC  | 53  | B | 127 |
| 541217 | 3513 | 3532 | 740  | 759  | GTGGGAGAGCGCCCCGTCCG  | 46  | B | 128 |
| 541218 | N/A  | N/A  | 767  | 786  | GTGCGGAGGCCAGCGAGGAG  | 75  | B | 129 |
| 541219 | 3562 | 3581 | 789  | 808  | GGTCCTCCCGGCTTTTGCCC  | 56  | B | 130 |

【 0 5 7 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

|        |      |      |      |      |                       |     |   |     |
|--------|------|------|------|------|-----------------------|-----|---|-----|
| 541220 | 3584 | 3603 | 811  | 830  | AGGCCGTCGCGCTGCGGGTC  | 73  | B | 131 |
| 541221 | 3622 | 3641 | 849  | 868  | GAGCGGGCCCAGGCTGTGCC  | 57  | B | 132 |
| 541222 | 3644 | 3663 | 871  | 890  | CCTTGGCCCTGCGGCCCCGC  | 39  | B | 133 |
| 541223 | 3666 | 3685 | 893  | 912  | GGACGTGGGTGGCGCAAGCA  | 58  | B | 134 |
| 541224 | 3689 | 3708 | 916  | 935  | CAGCCCCACCACGGA CTCCC | 68  | B | 135 |
| 541225 | 3720 | 3739 | 947  | 966  | CGCCGCCCCGGCGACCTGGG  | 57  | B | 136 |
| 541226 | 3784 | 3803 | 1011 | 1030 | CGGAGGCGGAGGCGTCCGGG  | 79  | B | 137 |
| 541227 | 3806 | 3825 | 1033 | 1052 | CCTTGCATCTGCCCCCTGCCG | 60  | B | 138 |
| 541228 | 3837 | 3856 | 1064 | 1083 | CTCCTGGAGCGCCTGGGAGG  | 82  | B | 139 |
| 541229 | 3859 | 3878 | 1086 | 1105 | GGAGTGCAGACCAGGGCGCC  | 67  | B | 140 |
| 541230 | 3889 | 3908 | 1116 | 1135 | CCAGGAGCTCATCCAGCAGC  | 56  | B | 141 |
| 541231 | 3911 | 3930 | 1138 | 1157 | TGCTGCAGAAACTCCGGGCT  | 71  | B | 142 |
| 541232 | 3933 | 3952 | 1160 | 1179 | CGTTTCTAGGAGAGGTTGCG  | 54  | B | 143 |
| 541233 | 4005 | 4024 | 1232 | 1251 | GTATTCTTCCTCGCTGAGGG  | 56  | B | 144 |
| 541234 | 4027 | 4046 | 1254 | 1273 | AAAGCTCCTCCAGCAGAGCC  | 66  | B | 145 |
| 541235 | 4049 | 4068 | 1276 | 1295 | CCCCGTCCCAACCCCGCGTC  | 80  | B | 146 |
| 541237 | 4093 | 4112 | 1320 | 1339 | TTCCCCGCGAAAGAGAGGCC  | 46  | B | 147 |
| 541238 | 4115 | 4134 | 1342 | 1361 | CCCCTCCGTAGCCAGCCAGG  | 53  | B | 148 |
| 541239 | 4152 | 4171 | 1379 | 1398 | CCGGTCAGCCCGGTGGAGGG  | 104 | B | 149 |
| 541240 | 4174 | 4193 | 1401 | 1420 | CCTAGAAGGCAGGAATCCCA  | 97  | B | 150 |
| 541241 | 4196 | 4215 | 1423 | 1442 | GGAGTCTCTCACCGGGCCTA  | 45  | B | 151 |
| 541242 | N/A  | N/A  | 1445 | 1464 | GAATGGCAGTTCTCCGCGGT  | 67  | B | 152 |
| 541243 | 4240 | 4259 | 1467 | 1486 | GATCCCCGGGATGCCCAGGA  | 63  | B | 153 |
| 541244 | 4273 | 4292 | N/A  | N/A  | CGGCCACCTGCTGGTACCT   | 80  | B | 154 |
| 541245 | 4295 | 4314 | N/A  | N/A  | AAACCCGCGCGTGCGCAGTA  | 63  | B | 155 |
| 541246 | 4317 | 4336 | N/A  | N/A  | CACAGCCCAGGCGGCTGCCC  | 83  | B | 156 |
| 541247 | 4339 | 4358 | N/A  | N/A  | AGAGCTCTGCCCGGGCTGCT  | 77  | B | 157 |
| 541248 | 4361 | 4380 | N/A  | N/A  | GGTGGGCTGGTGGAGAGGCA  | 80  | B | 158 |
| 541249 | 4460 | 4479 | N/A  | N/A  | CCCGGTGTTTCGCGGGACGG  | 63  | B | 159 |
| 541252 | 4565 | 4584 | N/A  | N/A  | GGCAGCTGGGAGGCTGCAGG  | 97  | B | 160 |
| 541254 | 4609 | 4628 | N/A  | N/A  | AAGACAGACAGAGGTATGCT  | 80  | B | 161 |
| 541255 | 4631 | 4650 | N/A  | N/A  | AGGTCTAGCCAGGAAGCGGG  | 46  | B | 162 |
| 541256 | 4666 | 4685 | 1531 | 1550 | TCCCTTGACGTCAGCCGGG   | 44† | B | 163 |
| 541257 | 4688 | 4707 | 1553 | 1572 | GGGCACAGAGAGGCCAGCGA  | 49† | B | 164 |
| 541258 | 4710 | 4729 | 1575 | 1594 | CCAGAATTTACGGAAGAAC   | 62† | B | 165 |
| 541259 | 4754 | 4773 | 1619 | 1638 | CAGGTTTGCTAGACAGCGT   | 41  | B | 166 |
| 541260 | 4776 | 4795 | 1641 | 1660 | TCCAGGAGATGTAACTCTAA  | 45  | B | 167 |
| 541261 | 4798 | 4817 | 1663 | 1682 | TAATATATCTCTGAACTAAT  | 87  | B | 168 |

【 0 5 7 4 】

10

20

30

40

50



、このプライマー・プローブセットのアンプリコン領域に相補的であることを示す。追加のアッセイを使用して、アンプリコン領域に相補的な修飾オリゴヌクレオチドの効力と有効性を測定してもよい。

【0579】

本実施例に記載する個々の実験分析は、表の「分析ID」と標識された列のC～Hの文字IDによって識別されている。

【0580】

以下の表では、化合物番号541114（本明細書の上記）を基準として使用した。

【0581】

【表3-1】

10

表3

分化した54-2細胞における均一ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する3-10-3 cEt ギャップマーによるDUX4 RNAの低減

| 化合物<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>1<br>終結<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終結<br>部位 | 配列(5'から3')           | DUX4<br>(%<br>UTC) | 分析<br>ID | 配列<br>番号 |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------|----------|----------|
| 541114    | 2830                      | 2849                      | 57                        | 76                        | AAACGAGTCTCCGTCGCCGT | 69                 | C        | 28       |
| 613801    | 4276                      | 4291                      | N/A                       | N/A                       | GGCCACCTGCTGGTA      | 68                 | C        | 173      |
| 613802    | 4321                      | 4336                      | N/A                       | N/A                       | CACAGCCAGGCGGCT      | 76                 | C        | 174      |
| 613803    | 4365                      | 4380                      | N/A                       | N/A                       | GGTGGGCTGGTGGAGA     | 106                | C        | 175      |
| 613804    | 4460                      | 4475                      | N/A                       | N/A                       | GTGTTTCGCGGGACGG     | 53                 | C        | 176      |
| 613805    | 4508                      | 4523                      | N/A                       | N/A                       | AGGCGAGCCGCCGAG      | 98                 | C        | 177      |
| 613822    | 2172                      | 2187                      | N/A                       | N/A                       | CGTTGCCGGGACGGTC     | 115                | C        | 178      |
| 613823    | 2232                      | 2247                      | N/A                       | N/A                       | GGGAGTCTTGAGTGTG     | 78                 | C        | 179      |
| 613824    | 2292                      | 2307                      | N/A                       | N/A                       | TCGGCAGCAGGGAGAA     | 124                | C        | 180      |
| 613825    | 2322                      | 2337                      | N/A                       | N/A                       | ACGGGAAGCCGCTCTC     | 90                 | C        | 181      |
| 613826    | 2416                      | 2431                      | N/A                       | N/A                       | CGGAGAGACGAAGAGG     | 89                 | C        | 182      |
| 613827    | 2570                      | 2585                      | N/A                       | N/A                       | AATGGCGGTGAGCCCC     | 100                | C        | 183      |
| 613828    | 2622                      | 2637                      | N/A                       | N/A                       | AGCCAGCCGCCCTTGT     | 91                 | C        | 184      |
| 613829    | 2669                      | 2684                      | N/A                       | N/A                       | CGGCAGGTGCAGCCAG     | 115                | C        | 185      |
| 613830    | 2739                      | 2754                      | N/A                       | N/A                       | AATTTACAGGACGGAC     | 87                 | C        | 186      |
| 613831    | 2832                      | 2847                      | 59                        | 74                        | ACGAGTCTCCGTCGCC     | 70                 | C        | 187      |
| 613832    | 2876                      | 2891                      | 103                       | 118                       | GCTCAAAGCAGGCTCG     | 88                 | C        | 188      |
| 613833    | 2914                      | 2929                      | 141                       | 156                       | CAGCCGTTCTCTGGTG     | 106                | C        | 189      |
| 613834    | 2935                      | 2950                      | 162                       | 177                       | CGGAATGCCGATGGCC     | 81                 | C        | 190      |
| 613835    | 3042                      | 3057                      | 269                       | 284                       | CGGCCTTCTGGCGGGC     | 101                | C        | 191      |
| 613836    | 3096                      | 3111                      | 323                       | 338                       | AAGGCTCGGAGGAGCA     | 122                | C        | 192      |
| 613837    | 3142                      | 3157                      | 369                       | 384                       | GGCCAGCTCCTCCCGG     | 84                 | C        | 193      |
| 613838    | 3164                      | 3179                      | 391                       | 406                       | ACTCCGGGAGGCCCGT     | 98                 | C        | 194      |
| 613839    | 3246                      | 3261                      | 473                       | 488                       | AGGCCGCCTGCCTGCG     | 85                 | C        | 195      |
| 613840    | 3331                      | 3346                      | 558                       | 573                       | GGGAAGCCCCGTCCC      | 111                | C        | 196      |
| 613841    | 3446                      | 3461                      | 673                       | 688                       | AGATCCCCTCTGCCGG     | 77                 | C        | 197      |
| 613842    | 3505                      | 3520                      | 732                       | 747                       | CCCGTCCGGAGGAGCC     | 104                | C        | 198      |
| 613843    | 3553                      | 3568                      | 780                       | 795                       | TTTGCCCGGGTGCGGA     | 86                 | C        | 199      |
| 613844    | 3611                      | 3626                      | 838                       | 853                       | GTGCCACCGCGCAGGG     | 77                 | C        | 200      |
| 613845    | 3646                      | 3661                      | 873                       | 888                       | TTGGCCCTGCGGCCCC     | 107                | C        | 201      |
| 613846    | 3720                      | 3735                      | 947                       | 962                       | GCCCCGGCGACCTGGG     | 108                | C        | 202      |
| 613847    | 3816                      | 3831                      | 1043                      | 1058                      | GGGATGCCTTGCATCT     | 88                 | C        | 203      |

20

30

40

50

【 0 5 8 2 】

【 表 3 - 2 】

|        |       |       |      |      |                      |     |   |     |
|--------|-------|-------|------|------|----------------------|-----|---|-----|
| 613848 | 3882  | 3897  | 1109 | 1124 | TCCAGCAGCAGGCCGC     | 89  | C | 204 |
| 613849 | 3936  | 3951  | 1163 | 1178 | GTTTCTAGGAGAGGTT     | 79  | C | 205 |
| 613850 | 3988  | 4003  | 1215 | 1230 | TGCTTCCAGCGAGGCG     | 100 | C | 206 |
| 613851 | 4051  | 4066  | 1278 | 1293 | CCGTCCCAACCCCGCG     | 73  | C | 207 |
| 613853 | 4116  | 4131  | 1343 | 1358 | CTCCGTAGCCAGCCAG     | 86  | C | 208 |
| 613854 | 4155  | 4170  | 1382 | 1397 | CGGTCAGCCCGGTGGA     | 116 | C | 209 |
| 613855 | 4195  | 4210  | 1422 | 1437 | CTCTCACCGGGCCTAG     | 69  | C | 210 |
| 613856 | 4239  | 4254  | 1466 | 1481 | CCGGGATGCCCAGGAA     | 84  | C | 211 |
| 613857 | 4275  | 4290  | N/A  | N/A  | GCCACCTGCTGGTAC      | 115 | C | 212 |
| 613858 | 4311  | 4326  | N/A  | N/A  | GCGGCTGCCCCGAAAC     | 110 | C | 213 |
| 613859 | 4332  | 4347  | N/A  | N/A  | CGGGCTGCTCCCACAG     | 97  | C | 214 |
| 613860 | 4463  | 4478  | N/A  | N/A  | CCGGTGTTCGCGGGA      | 98  | C | 215 |
| 613862 | 4606  | 4621  | N/A  | N/A  | ACAGAGGTATGCTTTT     | 113 | C | 216 |
| 613863 | 4647  | 4662  | 1512 | 1527 | CGCACTGCGCGCAGGT     | 81  | C | 217 |
| 613864 | 4706  | 4721  | 1571 | 1586 | TCACGGAAGAACAAGG     | 84† | C | 218 |
| 613865 | 4755  | 4770  | 1620 | 1635 | GTTTGCCTAGACAGCG     | 84  | C | 219 |
| 613866 | 4778  | 4793  | 1643 | 1658 | CAGGAGATGTA ACTCT    | 93  | C | 220 |
|        | 6419  | 6434  |      |      |                      |     |   |     |
| 613867 | 4826  | 4841  | 1691 | 1706 | AGGATCCACAGGGAGG     | 72  | C | 221 |
| 613868 | 4876  | 4891  | N/A  | N/A  | TATTGTGACATATCTC     | 110 | C | 222 |
|        | 8835  | 8850  |      |      |                      |     |   |     |
|        | 10001 | 10016 |      |      |                      |     |   |     |
| 613870 | 4975  | 4990  | N/A  | N/A  | TAACCATCTCTAGGT      | 100 | C | 223 |
| 613871 | 5026  | 5041  | N/A  | N/A  | CTGTCTACACGAGAAT     | 93  | C | 224 |
| 613872 | 5096  | 5111  | N/A  | N/A  | CTCTGCCTACAGGAGG     | 117 | C | 225 |
|        | 11107 | 11122 |      |      |                      |     |   |     |
| 613873 | 5148  | 5163  | N/A  | N/A  | TTTGTGAGATATCTCT     | 104 | C | 226 |
| 613874 | 5181  | 5196  | N/A  | N/A  | TGTAACCCCTTGCAAG     | 121 | C | 227 |
| 613875 | 5219  | 5234  | N/A  | N/A  | GGCTTTGTGATATATA     | 84  | C | 228 |
| 613876 | 5273  | 5288  | N/A  | N/A  | CTCTCCAATGCTCACT     | 125 | C | 229 |
| 613877 | 5316  | 5331  | N/A  | N/A  | TAACACTTGTCTAAGC     | 119 | C | 230 |
| 613878 | 5378  | 5393  | N/A  | N/A  | CTGTCTAGGTT CAGAC    | 89  | C | 231 |
| 541114 | 2830  | 2849  | 57   | 76   | AAACGAGTCTCCGTCGCCGT | 79  | D | 28  |
| 613879 | 4289  | 4304  | N/A  | N/A  | GTGCGCAGTAGGCGGC     | 73  | D | 232 |
| 613880 | 4343  | 4358  | N/A  | N/A  | AGAGCTCTGCCCCGGC     | 99  | D | 233 |
| 613881 | 4380  | 4395  | N/A  | N/A  | GCGGTCAGGCGGCGGG     | 86  | D | 234 |
| 613882 | 4493  | 4508  | N/A  | N/A  | GCGGTGTCAGGCCCGG     | 76  | D | 235 |
| 613883 | 4534  | 4549  | N/A  | N/A  | GCGACGGTGGCGCGGG     | 89  | D | 236 |
| 613899 | 2158  | 2173  | N/A  | N/A  | TCTCGCACACGCAGGC     | 157 | D | 237 |
| 613900 | 2207  | 2222  | N/A  | N/A  | CTCTCCGTGAAGGAGG     | 126 | D | 238 |

【 0 5 8 3 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

|        |      |      |      |      |                   |     |   |     |
|--------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 613901 | 2251 | 2266 | N/A  | N/A  | TGTGGAACCTGAACCTC | 100 | D | 239 |
| 613902 | 2308 | 2323 | N/A  | N/A  | TCTGGGCTCCCACGCG  | 89  | D | 240 |
| 613903 | 2349 | 2364 | N/A  | N/A  | CCGGACCTCTCCAGGG  | 100 | D | 241 |
| 613904 | 2533 | 2548 | N/A  | N/A  | CCGGAAGGGACCCAGG  | 120 | D | 242 |
| 613905 | 2607 | 2622 | N/A  | N/A  | TAAAGGCCACAGGCA   | 115 | D | 243 |
| 613906 | 2647 | 2662 | N/A  | N/A  | TGCCCCGACAGCCAGC  | 127 | D | 244 |
| 613907 | 2692 | 2707 | N/A  | N/A  | CACCTCAGCCGGACTG  | 110 | D | 245 |
| 613908 | 2754 | 2769 | N/A  | N/A  | GTGAGCCCCGGCCGGA  | 127 | D | 246 |
| 613909 | 2859 | 2874 | 86   | 101  | AGGGCCTCGCTTTGGC  | 87  | D | 247 |
| 613910 | 2899 | 2914 | 126  | 141  | GGCGATGCCCCGGGTAC | 74  | D | 248 |
| 613911 | 2921 | 2936 | 148  | 163  | CCTGGGCCAGCCGTTT  | 84  | D | 249 |
| 613912 | 2997 | 3012 | 224  | 239  | CGCCGGTGCTGCCTCA  | 83  | D | 250 |
| 613913 | 3073 | 3088 | 300  | 315  | CTGGGATCCGGTGACG  | 74  | D | 251 |
| 613914 | 3122 | 3137 | 349  | 364  | CGATGCCTGGAAGCG   | 128 | D | 252 |
| 613915 | 3160 | 3175 | 387  | 402  | CGGGAGGCCCGTCTCT  | 98  | D | 253 |
| 613916 | 3199 | 3214 | 426  | 441  | GGCCCTTCGATTCTGA  | 82  | D | 254 |
| 613917 | 3303 | 3318 | 530  | 545  | TGGGCGAAGGCGACCC  | 101 | D | 255 |
| 613918 | 3388 | 3403 | 615  | 630  | CTGGCTCACGAAAGCC  | 111 | D | 256 |
| 613919 | 3480 | 3495 | 707  | 722  | TAGGCGAAATCCCCGC  | 110 | D | 257 |
| 613920 | N/A  | N/A  | 761  | 776  | CAGCGAGGAGCCTGAG  | 121 | D | 258 |
| 613921 | 3596 | 3611 | 823  | 838  | GGCCCCGAGGCCGTC   | 149 | D | 259 |
| 613922 | 3628 | 3643 | 855  | 870  | TTGAGCGGGCCCAGGC  | 83  | D | 260 |
| 613923 | 3657 | 3672 | 884  | 899  | GCAAGCACCCCTTGGC  | 91  | D | 261 |
| 613924 | 3748 | 3763 | 975  | 990  | AGCTGCCCCGGCTTGG  | 85  | D | 262 |
| 613925 | 3860 | 3875 | 1087 | 1102 | GTGCAGACCAGGCGC   | 93  | D | 263 |
| 613926 | 3921 | 3936 | 1148 | 1163 | TGCGCTGCTGCAGAA   | 116 | D | 264 |
| 613927 | 3973 | 3988 | 1200 | 1215 | GGCCTCTCCGAGGCC   | 135 | D | 265 |
| 613928 | 4015 | 4030 | 1242 | 1257 | AGCCCGGTATTCTTCC  | 111 | D | 266 |
| 613929 | 4066 | 4081 | 1293 | 1308 | CCGAACCACCCGACCC  | 115 | D | 267 |
| 613930 | 4098 | 4113 | 1325 | 1340 | GTTCCCCGCGAAAGAG  | 110 | D | 268 |
| 613931 | 4131 | 4146 | 1358 | 1373 | GGCGGAGACACGCCCC  | 134 | D | 269 |
| 613932 | 4176 | 4191 | 1403 | 1418 | TAGAAGGCAGGAATCC  | 132 | D | 270 |
| 613933 | N/A  | N/A  | 1451 | 1466 | AAGAATGGCAGTTCTC  | 104 | D | 271 |
| 613934 | 4260 | 4275 | 1487 | 1502 | CCTGGGCCGGCTCTGG  | 104 | D | 272 |
| 613935 | 4288 | 4303 | N/A  | N/A  | TGCGCAGTAGGCGGCC  | 196 | D | 273 |
| 613936 | 4312 | 4327 | N/A  | N/A  | GGCGGCTGCCGCAAA   | 131 | D | 274 |
| 613937 | 4490 | 4505 | N/A  | N/A  | GTGTCAGGCCCGGACG  | 108 | D | 275 |
| 613938 | 4600 | 4615 | N/A  | N/A  | GTATGCTTTTGACCGC  | 107 | D | 276 |
| 613940 | 4684 | 4699 | 1549 | 1564 | AGAGGCCAGCGAGCTC  | 76† | D | 277 |
| 613941 | 4721 | 4736 | 1586 | 1601 | CATTCAGCCAGAATTT  | 86† | D | 278 |

【 0 5 8 4 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

|         |      |      |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 613942  | 4770 | 4785 | 1635 | 1650 | GTAACCTAATCCAGG   | 57  | D | 279 |
| 613943  | 4802 | 4817 | 1667 | 1682 | TAATATATCTCTGAAC  | 120 | D | 280 |
| 613944  | 4842 | 4857 | N/A  | N/A  | GATGCAAATCTTCTAT  | 130 | D | 281 |
| 613946  | 4960 | 4975 | N/A  | N/A  | TTCAGTCTACTATGGA  | 112 | D | 282 |
| 613947  | 4998 | 5013 | N/A  | N/A  | CTACACTGATCACCTA  | 120 | D | 283 |
| 613948  | 5041 | 5056 | N/A  | N/A  | ACAAATTGTCTAGGCTC | 96  | D | 284 |
| 613949  | 5111 | 5126 | N/A  | N/A  | GAACACTTGCCTACAC  | 83  | D | 285 |
| 613950  | 5166 | 5181 | N/A  | N/A  | GGTTTGGCTTATAGGG  | 121 | D | 286 |
| 613951  | 5207 | 5222 | N/A  | N/A  | TATATTTCCACTGCTC  | 107 | D | 287 |
| 613952  | 5238 | 5253 | N/A  | N/A  | CTGGGCTTTGTCTACA  | 108 | D | 288 |
| 613953  | 5284 | 5299 | N/A  | N/A  | TTGTGACAGATCTCTC  | 124 | D | 289 |
| 613955  | 5394 | 5409 | N/A  | N/A  | CAAGGTGATGTAATC   | 145 | D | 290 |
| 613956  | 2764 | 2779 | N/A  | N/A  | GGCCATCGCGGTGAGC  | 63  | D | 291 |
| 613910  | 2899 | 2914 | 126  | 141  | GGCGATGCCCCGGTAC  | 32  | E | 248 |
| 1098874 | 4304 | 4319 | N/A  | N/A  | CCCGCAAACCCGCGCG  | 51  | E | 292 |
| 1098878 | 4308 | 4323 | N/A  | N/A  | GCTGCCCGCAAACCCG  | 46  | E | 293 |
| 1098882 | 4314 | 4329 | N/A  | N/A  | CAGGCGGCTGCCCGCA  | 30  | E | 294 |
| 1098887 | 4382 | 4397 | N/A  | N/A  | GGGCGGTCAGGCGGCG  | 51  | E | 295 |
| 1098891 | 4467 | 4482 | N/A  | N/A  | GGGCCCCGGTGTTTCGC | 76  | E | 296 |
| 1098896 | 4495 | 4510 | N/A  | N/A  | GAGCGGTGTCAGGCCC  | 41  | E | 297 |
| 1098900 | 4500 | 4515 | N/A  | N/A  | CGCCGGAGCGGTGTCA  | 47  | E | 298 |
| 1098904 | 4504 | 4519 | N/A  | N/A  | GAGCCGCCGAGCGGT   | 32  | E | 299 |
| 1098908 | 4509 | 4524 | N/A  | N/A  | GAGGCGAGCCGCCGGA  | 36  | E | 300 |
| 1098912 | 4513 | 4528 | N/A  | N/A  | AGAGGAGGCGAGCCGC  | 25  | E | 301 |
| 1098916 | 4536 | 4551 | N/A  | N/A  | GGGCGACGGTGGCGCG  | 46  | E | 302 |
| 1099049 | 2167 | 2182 | N/A  | N/A  | CCGGGACGGTCTCGCA  | 80  | E | 303 |
| 1099053 | 2176 | 2191 | N/A  | N/A  | TCGCCGTTGCCGGGAC  | 56  | E | 304 |
| 1099057 | 2214 | 2229 | N/A  | N/A  | AGGCCCTCTCTCCGTG  | 61  | E | 305 |
| 1099061 | 2355 | 2370 | N/A  | N/A  | GGCTCTCCGACCTCT   | 50  | E | 306 |
| 1099065 | 2359 | 2374 | N/A  | N/A  | GGCCGGCTCTCCGGAC  | 80  | E | 307 |
| 1099069 | 2538 | 2553 | N/A  | N/A  | CCACCCCGGAAGGGAC  | 78  | E | 308 |
| 1099073 | 2543 | 2558 | N/A  | N/A  | CCGCCCCACCCCGGAA  | 53  | E | 309 |
| 1099077 | 2560 | 2575 | N/A  | N/A  | AGCCCCCTGGGACAG   | 55  | E | 310 |
| 1099081 | 2566 | 2581 | N/A  | N/A  | GCGGTGAGCCCCCTG   | 35  | E | 311 |
| 1099085 | 2609 | 2624 | N/A  | N/A  | TGTAAAGGCCACAGG   | 83  | E | 312 |
| 1099089 | 2613 | 2628 | N/A  | N/A  | CCCTTGTAAGGCCCA   | 66  | E | 313 |
| 1099093 | 2617 | 2632 | N/A  | N/A  | GCCGCCCTTGTAAGG   | 83  | E | 314 |
| 1099097 | 2646 | 2661 | N/A  | N/A  | GCCCGGACAGCCAGCC  | 45  | E | 315 |
| 1099101 | 2652 | 2667 | N/A  | N/A  | AGGCCTGCCCGGACAG  | 58  | E | 316 |
| 1099105 | 2695 | 2710 | N/A  | N/A  | GTGCACCTCAGCCGGA  | 60  | E | 317 |

【 0 5 8 5 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

|         |      |      |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1099109 | 2704 | 2719 | N/A  | N/A  | CGGGCTCCCGTGCACC  | 33  | E | 318 |
| 1099113 | 2708 | 2723 | N/A  | N/A  | CCGGCGGGCTCCCGTG  | 44  | E | 319 |
| 1099117 | 2713 | 2728 | N/A  | N/A  | AGAGGCCGGCGGGCTC  | 37  | E | 320 |
| 1099121 | 2732 | 2747 | N/A  | N/A  | CGGACGGACGCGGGCA  | 35  | E | 321 |
| 1099125 | 2752 | 2767 | N/A  | N/A  | GAGCCCCGGCCGGAAT  | 75  | E | 322 |
| 1099129 | 2759 | 2774 | N/A  | N/A  | TCGCGGTGAGCCCCGG  | 41  | E | 323 |
| 1099133 | 2763 | 2778 | N/A  | N/A  | GCCATCGCGGTGAGCC  | 28  | E | 324 |
| 1099137 | 2768 | 2783 | N/A  | N/A  | GGAGGGCCATCGCGGT  | 55  | E | 325 |
| 1099141 | N/A  | N/A  | 772  | 787  | GGTGCGGAGGCCAGCG  | 39  | E | 326 |
| 1099149 | 4105 | 4120 | 1332 | 1347 | GCCAGGTGTTCCCCGC  | 34  | E | 327 |
| 1099153 | 4192 | 4207 | 1419 | 1434 | TCACCGGGCCTAGACC  | 36  | E | 328 |
| 1099169 | 4649 | 4664 | 1514 | 1529 | TGCGCACTGCGCGCAG  | 112 | E | 329 |
| 1099174 | 4681 | 4696 | 1546 | 1561 | GGCCAGCGAGCTCCCT  | 36† | E | 330 |
| 1099178 | 4829 | 4844 | 1694 | 1709 | TATAGGATCCACAGGG  | 38  | E | 331 |
| 1099182 | 4833 | 4848 | N/A  | N/A  | CTTCTATAGGATCCAC  | 43  | E | 332 |
| 613910  | 2899 | 2914 | 126  | 141  | GGCGATGCCCCGGGTAC | 34  | F | 248 |
| 1098875 | 4305 | 4320 | N/A  | N/A  | GCCCCGAAACCCGCGC  | 47  | F | 333 |
| 1098879 | 4309 | 4324 | N/A  | N/A  | GGCTGCCCCGAAACCC  | 43  | F | 334 |
| 1098883 | 4340 | 4355 | N/A  | N/A  | GCTCTGCCCCGGGTGC  | 61  | F | 335 |
| 1098888 | 4464 | 4479 | N/A  | N/A  | CCCGGTGTTTCGCGGG  | 53  | F | 336 |
| 1098892 | 4489 | 4504 | N/A  | N/A  | TGTCAGGCCCCGGACGC | 41  | F | 337 |
| 1098897 | 4496 | 4511 | N/A  | N/A  | GGAGCGGTGTCAGGCC  | 59  | F | 338 |
| 1098901 | 4501 | 4516 | N/A  | N/A  | CCGCCGGAGCGGTGTC  | 42  | F | 339 |
| 1098905 | 4505 | 4520 | N/A  | N/A  | CGAGCCCGCGGAGCGG  | 38  | F | 340 |
| 1098909 | 4510 | 4525 | N/A  | N/A  | GGAGGCGAGCCGCCGG  | 33  | F | 341 |
| 1098913 | 4515 | 4530 | N/A  | N/A  | GCAGAGGAGGCGAGCC  | 53  | F | 342 |
| 1098917 | 4537 | 4552 | N/A  | N/A  | CGGGCGACGGTGCGGC  | 53  | F | 343 |
| 1099050 | 2173 | 2188 | N/A  | N/A  | CCGTTGCCGGGACGGT  | 50  | F | 344 |
| 1099054 | 2177 | 2192 | N/A  | N/A  | GTCGCCGTTGCCGGGA  | 57  | F | 345 |
| 1099058 | 2315 | 2330 | N/A  | N/A  | GCCGCTCTCTGGGCTC  | 58  | F | 346 |
| 1099062 | 2356 | 2371 | N/A  | N/A  | CGGCTCTCCGGACCTC  | 70  | F | 347 |
| 1099066 | 2360 | 2375 | N/A  | N/A  | GGGCCGGCTCTCCGGA  | 96  | F | 348 |
| 1099070 | 2539 | 2554 | N/A  | N/A  | CCCACCCCGGAAGGGA  | 90  | F | 349 |
| 1099074 | 2552 | 2567 | N/A  | N/A  | TGGGACAGCCCGCCCC  | 95  | F | 350 |
| 1099078 | 2561 | 2576 | N/A  | N/A  | GAGCCCCCTGGGACA   | 60  | F | 351 |
| 1099082 | 2567 | 2582 | N/A  | N/A  | GGCGGTGAGCCCCCT   | 56  | F | 352 |
| 1099086 | 2610 | 2625 | N/A  | N/A  | TTGTAAAGGCCACAG   | 67  | F | 353 |
| 1099090 | 2614 | 2629 | N/A  | N/A  | GCCCTTGTAAGGCC    | 80  | F | 354 |
| 1099094 | 2618 | 2633 | N/A  | N/A  | AGCCGCCCTTGTAAG   | 58  | F | 355 |
| 1099098 | 2649 | 2664 | N/A  | N/A  | CCTGCCCGGACAGCCA  | 51  | F | 356 |

【 0 5 8 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

|         |      |      |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1099102 | 2653 | 2668 | N/A  | N/A  | GAGGCCTGCCCGGACA  | 30  | F | 357 |
| 1099106 | 2696 | 2711 | N/A  | N/A  | CGTGACCTCAGCCGG   | 65  | F | 358 |
| 1099110 | 2705 | 2720 | N/A  | N/A  | GCGGGCTCCCGTGAC   | 34  | F | 359 |
| 1099114 | 2709 | 2724 | N/A  | N/A  | GCCGGCGGGCTCCCGT  | 37  | F | 360 |
| 1099118 | 2715 | 2730 | N/A  | N/A  | AGAGAGGCCGGCGGGC  | 39  | F | 361 |
| 1099122 | 2733 | 2748 | N/A  | N/A  | ACGGACGGACGCGGGC  | 50  | F | 362 |
| 1099126 | 2753 | 2768 | N/A  | N/A  | TGAGCCCCGCGCGAA   | 34  | F | 363 |
| 1099130 | 2760 | 2775 | N/A  | N/A  | ATCGCGGTGAGCCCCG  | 42  | F | 364 |
| 1099134 | 2765 | 2780 | N/A  | N/A  | GGGCCATCGCGGTGAG  | 55  | F | 365 |
| 1099138 | N/A  | N/A  | 768  | 783  | CGGAGGCCAGCGAGGA  | 29  | F | 366 |
| 1099150 | 4106 | 4121 | 1333 | 1348 | AGCCAGGTGTTCCCG   | 32  | F | 367 |
| 1099170 | 4650 | 4665 | 1515 | 1530 | GTGCGCACTGCGCGCA  | 68  | F | 368 |
| 1099175 | 4682 | 4697 | 1547 | 1562 | AGGCCAGCGAGCTCCC  | 18† | F | 369 |
| 1099179 | 4830 | 4845 | 1695 | 1710 | CTATAGGATCCACAGG  | 46  | F | 370 |
| 1099183 | 4834 | 4849 | N/A  | N/A  | TCITCTATAGGATCCA  | 35  | F | 371 |
| 613910  | 2899 | 2914 | 126  | 141  | GGCGATGCCCGGGTAC  | 32  | G | 248 |
| 1098876 | 4306 | 4321 | N/A  | N/A  | TGCCCCGCAAACCCGCG | 78  | G | 372 |
| 1098880 | 4310 | 4325 | N/A  | N/A  | CGGCTGCCCGCAAACC  | 88  | G | 373 |
| 1098884 | 4341 | 4356 | N/A  | N/A  | AGCTCTGCCCGGGCTG  | 128 | G | 374 |
| 1098889 | 4465 | 4480 | N/A  | N/A  | GCCCCGTGTTTCGCGG  | 140 | G | 375 |
| 1098894 | 4492 | 4507 | N/A  | N/A  | CGGTGTCAGGCCCGGA  | 42  | G | 376 |
| 1098898 | 4498 | 4513 | N/A  | N/A  | CCGAGCGGTGTCAGG   | 89  | G | 377 |
| 1098902 | 4502 | 4517 | N/A  | N/A  | GCCGCCGAGCGGTGT   | 151 | G | 378 |
| 1098906 | 4506 | 4521 | N/A  | N/A  | GCGAGCCGCCGAGCG   | 66  | G | 379 |
| 1098910 | 4511 | 4526 | N/A  | N/A  | AGGAGGCGAGCCGCCG  | 57  | G | 380 |
| 1098914 | 4518 | 4533 | N/A  | N/A  | GGCGCAGAGGAGGCGA  | 74  | G | 381 |
| 1098918 | 4538 | 4553 | N/A  | N/A  | GCGGGCGACGGTGGCG  | 103 | G | 382 |
| 1098923 | 4581 | 4596 | N/A  | N/A  | GCGCTCCGTGCTGGCA  | 142 | G | 383 |
| 1099051 | 2174 | 2189 | N/A  | N/A  | GCCGTGCCGGGACGG   | 74  | G | 384 |
| 1099055 | 2178 | 2193 | N/A  | N/A  | CGTCGCCGTTGCCGGG  | 88  | G | 385 |
| 1099059 | 2341 | 2356 | N/A  | N/A  | CTCCAGGGATCCCGCG  | 147 | G | 386 |
| 1099063 | 2357 | 2372 | N/A  | N/A  | CCGGCTCTCCGGACCT  | 88  | G | 387 |
| 1099067 | 2534 | 2549 | N/A  | N/A  | CCCGGAAGGGACCCAG  | 84  | G | 388 |
| 1099071 | 2541 | 2556 | N/A  | N/A  | GCCCCACCCCGGAAGG  | 168 | G | 389 |
| 1099075 | 2553 | 2568 | N/A  | N/A  | CTGGGACAGCCCGCCC  | 94  | G | 390 |
| 1099079 | 2562 | 2577 | N/A  | N/A  | TGAGCCCCCTGGGAC   | 150 | G | 391 |
| 1099083 | 2568 | 2583 | N/A  | N/A  | TGGCGGTGAGCCCCC   | 98  | G | 392 |
| 1099087 | 2611 | 2626 | N/A  | N/A  | CTTGTAAGGCCACA    | 106 | G | 393 |
| 1099091 | 2615 | 2630 | N/A  | N/A  | CGCCCTTGTAAGGCC   | 132 | G | 394 |
| 1099095 | 2619 | 2634 | N/A  | N/A  | CAGCCGCCCTTGTAAG  | 96  | G | 395 |

【 0 5 8 7 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 7】

|         |      |      |      |      |                   |     |    |     |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|----|-----|
| 1099099 | 2650 | 2665 | N/A  | N/A  | GCCTGCCCCGGACAGCC | 65  | G  | 396 |
| 1099103 | 2675 | 2690 | N/A  | N/A  | GCACTGCGGCAGGTGC  | 87  | G  | 397 |
| 1099107 | 2697 | 2712 | N/A  | N/A  | CCGTGCACCTCAGCCG  | 33  | G  | 398 |
| 1099111 | 2706 | 2721 | N/A  | N/A  | GGCGGGCTCCCGTGCA  | 73  | G  | 399 |
| 1099115 | 2711 | 2726 | N/A  | N/A  | AGGCCGGCGGGCTCCC  | 63  | G  | 400 |
| 1099119 | 2716 | 2731 | N/A  | N/A  | GAGAGAGGCCGGCGGG  | 120 | G  | 401 |
| 1099123 | 2750 | 2765 | N/A  | N/A  | GCCCCGGCCGGAATTT  | 64  | G  | 402 |
| 1099127 | 2755 | 2770 | N/A  | N/A  | GGTGAGCCCCGGCCGG  | 71  | G  | 403 |
| 1099131 | 2761 | 2776 | N/A  | N/A  | CATCGCGGTGAGCCCC  | 75  | G  | 404 |
| 1099135 | 2766 | 2781 | N/A  | N/A  | AGGGCCATCGCGGTGA  | 76  | G  | 405 |
| 1099139 | N/A  | N/A  | 770  | 785  | TGCGGAGGCCAGCGAG  | 47  | G  | 406 |
| 1099147 | 4103 | 4118 | 1330 | 1345 | CAGGTGTTCCCCGCGA  | 49  | G  | 407 |
| 1099151 | 4114 | 4129 | 1341 | 1356 | CCGTAGCCAGCCAGGT  | 48  | G  | 408 |
| 1099167 | 4646 | 4661 | 1511 | 1526 | GCACTGCGCGCAGGTC  | 81  | G  | 409 |
| 1099172 | 4652 | 4667 | 1517 | 1532 | GGGTGCGCACTGCGCG  | 91† | G  | 410 |
| 1099176 | 4683 | 4698 | 1548 | 1563 | GAGGCCAGCGAGCTCC  | 57† | G  | 411 |
| 1099180 | 4831 | 4846 | N/A  | N/A  | TCTATAGGATCCACAG  | 56  | G  | 412 |
| 1099184 | 4835 | 4850 | N/A  | N/A  | ATCTTCTATAGGATCC  | 39  | G  | 413 |
| 613910  | 2899 | 2914 | 126  | 141  | GGCGATGCCCGGGTAC  | 37  | H  | 248 |
| 1098877 | 4307 | 4322 | N/A  | N/A  | CTGCCCCGAAACCCGC  | 37  | H  | 414 |
| 1098881 | 4313 | 4328 | N/A  | N/A  | AGGCGGCTGCCCCGAA  | 31  | H  | 415 |
| 1098886 | 4344 | 4359 | N/A  | N/A  | GAGAGCTCTGCCCGGG  | 78  | H  | 416 |
| 1098890 | 4466 | 4481 | N/A  | N/A  | GGCCCCGGTGTTTCGCG | 77  | H  | 417 |
| 1098895 | 4494 | 4509 | N/A  | N/A  | AGCGGTGTCAGGCCCG  | 30  | H  | 418 |
| 1098899 | 4499 | 4514 | N/A  | N/A  | GCCGGAGCGGTGTCAG  | 60  | H  | 419 |
| 1098903 | 4503 | 4518 | N/A  | N/A  | AGCCGCCGGAGCGGTG  | 56  | H  | 420 |
| 1098907 | 4507 | 4522 | N/A  | N/A  | GGCGAGCCCGCGGAGC  | 33  | H  | 421 |
| 1098911 | 4512 | 4527 | N/A  | N/A  | GAGGAGGCGAGCCGCC  | 37  | H  | 422 |
| 1098915 | 4535 | 4550 | N/A  | N/A  | GGCGACGGTGGCGCGG  | 39  | H  | 423 |
| 1099052 | 2175 | 2190 | N/A  | N/A  | CGCCGTTGCCGGGACG  | 56  | H  | 424 |
| 1099056 | 2213 | 2228 | N/A  | N/A  | GGCCCTCTCTCCGTGA  | 83  | H  | 425 |
| 1099060 | 2354 | 2369 | N/A  | N/A  | GCTCTCCGGACCTCTC  | 73  | II | 426 |
| 1099064 | 2358 | 2373 | N/A  | N/A  | GCCGGCTCTCCGACC   | 61  | II | 427 |
| 1099068 | 2535 | 2550 | N/A  | N/A  | CCCCGGAAGGGACCCA  | 62  | II | 428 |
| 1099072 | 2542 | 2557 | N/A  | N/A  | CGCCCCACCCCGGAAG  | 77  | H  | 429 |
| 1099076 | 2554 | 2569 | N/A  | N/A  | CCTGGGACAGCCCGCC  | 41  | H  | 430 |
| 1099080 | 2565 | 2580 | N/A  | N/A  | CGGTGAGCCCCCTGG   | 36  | H  | 431 |
| 1099084 | 2569 | 2584 | N/A  | N/A  | ATGGCGGTGAGCCCCC  | 56  | H  | 432 |
| 1099088 | 2612 | 2627 | N/A  | N/A  | CCTTGTAAGGCCAC    | 62  | H  | 433 |
| 1099092 | 2616 | 2631 | N/A  | N/A  | CCGCCCTTGTAAGGC   | 81  | H  | 434 |

【 0 5 8 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

|         |      |      |      |      |                  |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|------------------|-----|---|-----|
| 1099096 | 2621 | 2636 | N/A  | N/A  | GCCAGCCGCCCTTGTA | 44  | H | 435 |
| 1099100 | 2651 | 2666 | N/A  | N/A  | GGCCTGCCCGGACAGC | 52  | H | 436 |
| 1099104 | 2693 | 2708 | N/A  | N/A  | GCACCTCAGCCGGA   | 39  | H | 437 |
| 1099108 | 2698 | 2713 | N/A  | N/A  | CCCGTGACCTCAGCC  | 32  | H | 438 |
| 1099112 | 2707 | 2722 | N/A  | N/A  | CGGCGGGCTCCCGTGC | 48  | H | 439 |
| 1099116 | 2712 | 2727 | N/A  | N/A  | GAGGCCGGCGGGCTCC | 37  | H | 440 |
| 1099120 | 2731 | 2746 | N/A  | N/A  | GGACGGACGCGGGCAG | 49  | H | 441 |
| 1099124 | 2751 | 2766 | N/A  | N/A  | AGCCCCGGCCGGAATT | 44  | H | 442 |
| 1099128 | 2756 | 2771 | N/A  | N/A  | CGGTGAGCCCCGGCCG | 42  | H | 443 |
| 1099132 | 2762 | 2777 | N/A  | N/A  | CCATCGCGGTGAGCCC | 32  | H | 444 |
| 1099136 | 2767 | 2782 | N/A  | N/A  | GAGGGCCATCGCGGTG | 56  | H | 445 |
| 1099140 | N/A  | N/A  | 771  | 786  | GTGCGGAGGCCAGCGA | 26  | H | 446 |
| 1099148 | 4104 | 4119 | 1331 | 1346 | CCAGGTGTTCCCCGCG | 32  | H | 447 |
| 1099152 | 4191 | 4206 | 1418 | 1433 | CACCGGGCCTAGACCT | 59  | H | 448 |
| 1099168 | 4648 | 4663 | 1513 | 1528 | GCGCACTGCGCGCAGG | 68  | H | 449 |
| 1099173 | 4680 | 4695 | 1545 | 1560 | GCCAGCGAGCTCCCTT | 10† | H | 450 |
| 1099177 | 4828 | 4843 | 1693 | 1708 | ATAGGATCCACAGGGA | 55  | H | 451 |
| 1099181 | 4832 | 4847 | N/A  | N/A  | TTCTATAGGATCCACA | 45  | H | 452 |
| 1099185 | 4836 | 4851 | N/A  | N/A  | AATCTTCTATAGGATC | 85  | H | 453 |

10

20

【 0 5 8 9 】

30

40

50

## 【表 4 - 1】

表 4

分化した 54-2 細胞における均一ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する 3-10-3 cEt ギャップマーによる DUX4 RNA の低減

| 化合物<br>番号 | 配列<br>番号<br>3<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>3<br>終結<br>部位 | 配列(5'から 3')      | DUX4<br>(% UTC) | 分析<br>ID | 配列<br>番号 |
|-----------|---------------------------|---------------------------|------------------|-----------------|----------|----------|
| 613806    | 1208                      | 1223                      | GGCACCTGGGCGGCTG | 90              | C        | 454      |
|           | 4504                      | 4519                      |                  |                 |          |          |
| 613807    | 1256                      | 1271                      | TGTGCGCCGGGCCTGG | 70              | C        | 455      |
|           | 4552                      | 4567                      |                  |                 |          |          |
| 613808    | 1332                      | 1347                      | CGCCCCTCTAGGTCTC | 82              | C        | 456      |
|           | 4628                      | 4643                      |                  |                 |          |          |
| 613809    | 1366                      | 1381                      | TCCCTCCCTCCTAACG | 93              | C        | 457      |
|           | 4662                      | 4677                      |                  |                 |          |          |
| 613810    | 1441                      | 1456                      | GGCTCCCTCCCGCCCG | 128             | C        | 458      |
|           | 4737                      | 4752                      |                  |                 |          |          |
| 613811    | 1533                      | 1548                      | CGCTGACCGTTTCCC  | 97              | C        | 459      |
|           | 4826                      | 4841                      |                  |                 |          |          |
| 613812    | 4887                      | 4902                      | ATGGGTGGTGCCCCGC | 110             | C        | 460      |
| 613813    | 1630                      | 1645                      | AGGAAACCGCCCACTC | 117             | C        | 461      |
|           | 4926                      | 4941                      |                  |                 |          |          |
| 613814    | 1693                      | 1708                      | GCGGTCTGTGAACCGC | 115             | C        | 462      |
|           | 4989                      | 5004                      |                  |                 |          |          |
| 613815    | 1733                      | 1748                      | TCGGCCTCGCGCCGCG | 123             | C        | 463      |
|           | 5029                      | 5044                      |                  |                 |          |          |
| 613816    | 1796                      | 1811                      | CCACGCGGAAACCAAA | 96              | C        | 464      |
|           | 5092                      | 5107                      |                  |                 |          |          |
| 613817    | 1856                      | 1871                      | TGGCCAGCCTTTCGGG | 96              | C        | 465      |
|           | 5152                      | 5167                      |                  |                 |          |          |
| 613818    | 1921                      | 1936                      | CGGGCTTGACCCCTTC | 111             | C        | 466      |
|           | 5217                      | 5232                      |                  |                 |          |          |
| 613819    | 1969                      | 1984                      | GCAGTGTGGCCGTTTT | 95              | C        | 467      |
|           | 5265                      | 5280                      |                  |                 |          |          |
| 613820    | 2031                      | 2046                      | AGATGCCTCCCCGGCG | 122             | C        | 468      |
|           | 5327                      | 5342                      |                  |                 |          |          |
| 613821    | 2060                      | 2075                      | TAGAAGACCAGAGCGA | 118             | C        | 469      |
|           | 5356                      | 5371                      |                  |                 |          |          |
| 613852    | 7318                      | 7333                      | AGAGAGGCCACGGCCC | 95              | C        | 470      |

【 0 5 9 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

|         |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 613861  | 7808 | 7823 | CCGCGCTGGCAGCTGG  | 110 | C | 471 |
| 613869  | 8156 | 8171 | TGATCACCGAAGTTAT  | 115 | C | 472 |
| 613884  | 1232 | 1247 | TTCCGCCGCCAGGCGC  | 100 | D | 473 |
|         | 4528 | 4543 |                   |     |   |     |
| 613885  | 1302 | 1317 | ATCTCTGCCCCGCCTTC | 77  | D | 474 |
|         | 4598 | 4613 |                   |     |   |     |
| 613886  | 1347 | 1362 | CTCCGCCCCGTCCTTCC | 58  | D | 475 |
|         | 4643 | 4658 |                   |     |   |     |
| 613887  | 1403 | 1418 | GTCTTTCCCTCCGTTC  | 81  | D | 476 |
|         | 4699 | 4714 |                   |     |   |     |
| 613888  | 1494 | 1509 | CCGGAGGCCGAGGACC  | 91  | D | 477 |
|         | 4787 | 4802 |                   |     |   |     |
| 613889  | 1569 | 1584 | CGGCGGCTGTGGGCCC  | 145 | D | 478 |
|         | 4862 | 4877 |                   |     |   |     |
| 613890  | 4910 | 4925 | CCTGGGCCCCGGAACC  | 147 | D | 479 |
| 613891  | 1661 | 1676 | CGGCAACCCGAGTCCC  | 152 | D | 480 |
|         | 4957 | 4972 |                   |     |   |     |
| 613892  | 5013 | 5028 | TTGCAGGGCTGAGCCT  | 148 | D | 481 |
| 613893  | 1753 | 1768 | CTCCTCCGTGGCCGGG  | 125 | D | 482 |
|         | 5049 | 5064 |                   |     |   |     |
| 613894  | 1825 | 1840 | AGCAACAGGCCGCCTT  | 106 | D | 483 |
|         | 5121 | 5136 |                   |     |   |     |
| 613895  | 1878 | 1893 | CTCCGGGAGCAAACAG  | 77  | D | 484 |
|         | 5174 | 5189 |                   |     |   |     |
| 613896  | 1954 | 1969 | TGGAACCTGGCAAGGA  | 109 | D | 485 |
|         | 5250 | 5265 |                   |     |   |     |
| 613897  | 2006 | 2021 | GACGATGGATTCCCGC  | 132 | D | 486 |
|         | 5302 | 5317 |                   |     |   |     |
| 613898  | 2047 | 2062 | CGAGACCCCAGAGAGG  | 133 | D | 487 |
|         | 5343 | 5358 |                   |     |   |     |
| 613945  | 8141 | 8156 | TGTAAACCAATTTTCAG | 120 | D | 488 |
| 613954  | 8585 | 8600 | GTTTTGACATATCTCT  | 105 | D | 489 |
| 1098920 | 1209 | 1224 | TGGCACCTGGGCGGCT  | 52  | E | 490 |
|         | 4505 | 4520 |                   |     |   |     |
| 1098925 | 1234 | 1249 | CGTTCCGCCGCCAGGC  | 61  | E | 491 |
|         | 4530 | 4545 |                   |     |   |     |
| 1098929 | 1260 | 1275 | CCGGTGTGCGCCGGGC  | 54  | E | 492 |
|         | 4556 | 4571 |                   |     |   |     |
| 1098933 | 1264 | 1279 | GTCCCCGGTGTGCGCC  | 46  | E | 493 |
|         | 4560 | 4575 |                   |     |   |     |
| 1098937 | 1305 | 1320 | TCCATCTCTGCCCCGC  | 42  | E | 494 |
|         | 4601 | 4616 |                   |     |   |     |

【 0 5 9 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

|         |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1098941 | 1333 | 1348 | CCGCCCCCTCTAGGTCT | 35  | E | 495 |
|         | 4629 | 4644 |                   |     |   |     |
| 1098945 | 1339 | 1354 | GTCCTTCCGCCCCCTCT | 70  | E | 496 |
|         | 4635 | 4650 |                   |     |   |     |
| 1098950 | 1344 | 1359 | CGCCCCGTCCCTCCGCC | 45  | E | 497 |
|         | 4640 | 4655 |                   |     |   |     |
| 1098954 | 1349 | 1364 | CCCTCCGCCCCGTCCTT | 70  | E | 498 |
|         | 4645 | 4660 |                   |     |   |     |
| 1098958 | 4746 | 4761 | CCGTCCCCCGGCTCCC  | 63  | E | 499 |
| 1098962 | 1491 | 1506 | GAGGCCGAGGACCGCT  | 49  | E | 500 |
|         | 4784 | 4799 |                   |     |   |     |
| 1098966 | 1500 | 1515 | CTACTCCCGGAGGCCG  | 39  | E | 501 |
|         | 4793 | 4808 |                   |     |   |     |
| 1098970 | 1505 | 1520 | TCCCGCTACTCCCGGA  | 64  | E | 502 |
|         | 4798 | 4813 |                   |     |   |     |
| 1098974 | 1546 | 1561 | AGCCCGCGCCGGACGC  | 48  | E | 503 |
|         | 4839 | 4854 |                   |     |   |     |
| 1098979 | 1552 | 1567 | GCCCTCAGCCCGCGCC  | 129 | E | 504 |
|         | 4845 | 4860 |                   |     |   |     |
| 1098983 | 1571 | 1586 | CGCGGCGGCTGTGGGC  | 90  | E | 505 |
|         | 4864 | 4879 |                   |     |   |     |
| 1098987 | 1575 | 1590 | CCGGCGCGGCGGCTGT  | 53  | E | 506 |
|         | 4868 | 4883 |                   |     |   |     |
| 1098992 | 4885 | 4900 | GGGTGGTGCCCCGCCG  | 64  | E | 507 |
| 1098996 | 4911 | 4926 | CCCTGGGCCCCGGAAC  | 44  | E | 508 |
| 1099000 | 1656 | 1671 | ACCCGAGTCCCGGTCT  | 69  | E | 509 |
|         | 4952 | 4967 |                   |     |   |     |
| 1099004 | 1667 | 1682 | ACCCGACGGCAACCCG  | 62  | E | 510 |
|         | 4963 | 4978 |                   |     |   |     |
| 1099008 | 1735 | 1750 | TGTCGGCCTCGCGCCG  | 49  | E | 511 |
|         | 5031 | 5046 |                   |     |   |     |
| 1099012 | 1739 | 1754 | GGGCTGTCCGCCTCGC  | 63  | E | 512 |
|         | 5035 | 5050 |                   |     |   |     |
| 1099016 | 1815 | 1830 | CGCCTTGCGGAGGGCA  | 48  | E | 513 |
|         | 5111 | 5126 |                   |     |   |     |
| 1099020 | 1819 | 1834 | AGGCCGCCTTGCGGAG  | 46  | E | 514 |
|         | 5115 | 5130 |                   |     |   |     |
| 1099024 | 1884 | 1899 | GCAGAGCTCCGGGAGC  | 80  | E | 515 |
|         | 5180 | 5195 |                   |     |   |     |
| 1099028 | 1889 | 1904 | TGCCCGCAGAGCTCCG  | 56  | E | 516 |
|         | 5185 | 5200 |                   |     |   |     |

【 0 5 9 2 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

|         |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1099033 | 1894 | 1909 | CCGGGTGCCCCGAGAG  | 63  | E | 517 |
|         | 5190 | 5205 |                   |     |   |     |
| 1099037 | 1898 | 1913 | GTTTCCGGGTGCCCCG  | 42  | E | 518 |
|         | 5194 | 5209 |                   |     |   |     |
| 1099041 | 5222 | 5237 | CGTGCCGGGCTTGCAC  | 89  | E | 519 |
| 1099045 | 5229 | 5244 | AAGGCACCGTGCCGGG  | 61  | E | 520 |
| 1099145 | 7315 | 7330 | GAGGCCACGGCCCTGC  | 45  | E | 521 |
| 1099157 | 7811 | 7826 | GCTCCGCGCTGGCAGC  | 46  | E | 522 |
| 1099161 | 7815 | 7830 | AGGAGCTCCGCGCTGG  | 68  | E | 523 |
| 1099165 | 7819 | 7834 | CGCCAGGAGCTCCGCG  | 41  | E | 524 |
| 1098922 | 1219 | 1234 | CGCTCCGTGCTGGCAC  | 45  | F | 525 |
|         | 4515 | 4530 |                   |     |   |     |
| 1098926 | 1257 | 1272 | GTGTGCGCCGGGCCTG  | 60  | F | 526 |
|         | 4553 | 4568 |                   |     |   |     |
| 1098930 | 1261 | 1276 | CCCGGTGTGCGCCGGG  | 58  | F | 527 |
|         | 4557 | 4572 |                   |     |   |     |
| 1098934 | 1265 | 1280 | CGTCCCCGGTGTGCGC  | 51  | F | 528 |
|         | 4561 | 4576 |                   |     |   |     |
| 1098938 | 1329 | 1344 | CCCTCTAGGTCTCCCG  | 55  | F | 529 |
|         | 4625 | 4640 |                   |     |   |     |
| 1098942 | 1334 | 1349 | TCCGCCCCCTCTAGGTC | 75  | F | 530 |
|         | 4630 | 4645 |                   |     |   |     |
| 1098946 | 1340 | 1355 | CGTCCTTCCGCCCCCTC | 63  | F | 531 |
|         | 4636 | 4651 |                   |     |   |     |
| 1098951 | 1345 | 1360 | CCGCCCCGTCCTTCCGC | 58  | F | 532 |
|         | 4641 | 4656 |                   |     |   |     |
| 1098955 | 1351 | 1366 | GTCCCTCCGCCCCGTCC | 60  | F | 533 |
|         | 4647 | 4662 |                   |     |   |     |
| 1098959 | 4747 | 4762 | CCCGTCCCCCGGCTCC  | 89  | F | 534 |
| 1098963 | 1493 | 1508 | CGGAGGCCGAGGACCG  | 44  | F | 535 |
|         | 4786 | 4801 |                   |     |   |     |
| 1098967 | 1501 | 1516 | GCTACTCCCGGAGGCC  | 57  | F | 536 |
|         | 4794 | 4809 |                   |     |   |     |
| 1098971 | 1506 | 1521 | GTCCCGCTACTCCCGG  | 52  | F | 537 |
|         | 4799 | 4814 |                   |     |   |     |
| 1098975 | 1548 | 1563 | TCAGCCCGCGCCGGAC  | 66  | F | 538 |
|         | 4841 | 4856 |                   |     |   |     |
| 1098980 | 1553 | 1568 | AGCCCTCAGCCCGCGC  | 91  | F | 539 |
|         | 4846 | 4861 |                   |     |   |     |
| 1098984 | 1572 | 1587 | GCGCGGCGGCTGTGGG  | 105 | F | 540 |
|         | 4865 | 4880 |                   |     |   |     |
| 1098988 | 4881 | 4896 | GGTGCCCCGCCGGCCG  | 89  | F | 541 |

【 0 5 9 3 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

|         |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1098993 | 4886 | 4901 | TGGGTGGTGCCCCGCC  | 48  | F | 542 |
| 1098997 | 4912 | 4927 | TCCCTGGGCCCCCGAA  | 53  | F | 543 |
| 1099001 | 1659 | 1674 | GCAACCCGAGTCCCCGG | 77  | F | 544 |
|         | 4955 | 4970 |                   |     |   |     |
| 1099005 | 4964 | 4979 | GACCCGACGGCAACCC  | 86  | F | 545 |
| 1099009 | 1736 | 1751 | CTGTCCGGCCTCGCGCC | 32  | F | 546 |
|         | 5032 | 5047 |                   |     |   |     |
| 1099013 | 1754 | 1769 | GCTCCTCCGTGGCCCGG | 73  | F | 547 |
|         | 5050 | 5065 |                   |     |   |     |
| 1099017 | 1816 | 1831 | CCGCCTTGCGGAGGGC  | 73  | F | 548 |
|         | 5112 | 5127 |                   |     |   |     |
| 1099021 | 1820 | 1835 | CAGGCCGCCTTGCGGA  | 59  | F | 549 |
|         | 5116 | 5131 |                   |     |   |     |
| 1099025 | 1886 | 1901 | CCGCAGAGCTCCGGGA  | 80  | F | 550 |
|         | 5182 | 5197 |                   |     |   |     |
| 1099029 | 1890 | 1905 | GTGCCCCGAGAGCTCC  | 65  | F | 551 |
|         | 5186 | 5201 |                   |     |   |     |
| 1099034 | 1895 | 1910 | TCCGGGTGCCCCGAGA  | 57  | F | 552 |
|         | 5191 | 5206 |                   |     |   |     |
| 1099038 | 1923 | 1938 | GCCGGGCTTGACCCCT  | 66  | F | 553 |
|         | 5219 | 5234 |                   |     |   |     |
| 1099042 | 5223 | 5238 | CCGTGCCGGGCTTGCA  | 43  | F | 554 |
| 1099046 | 5230 | 5245 | GAAGGCACCGTGCCGG  | 91  | F | 555 |
| 1099142 | 7307 | 7322 | GGCCCTGCCCCGAACC  | 51  | F | 556 |
| 1099146 | 7316 | 7331 | AGAGGCCACGGCCCTG  | 47  | F | 557 |
| 1099154 | 7807 | 7822 | CGCGCTGGCAGCTGGG  | 79  | F | 558 |
| 1099158 | 7812 | 7827 | AGCTCCGCGCTGGCAG  | 54  | F | 559 |
| 1099162 | 7816 | 7831 | CAGGAGCTCCGCGCTG  | 68  | F | 560 |
| 1099166 | 7822 | 7837 | GACCGCCAGGAGCTCC  | 49  | F | 561 |
| 1098927 | 1258 | 1273 | GGTGTGCGCCGGGCCT  | 107 | G | 562 |
|         | 4554 | 4569 |                   |     |   |     |
| 1098931 | 1262 | 1277 | CCCCGGTGTGCGCCGG  | 105 | G | 563 |
|         | 4558 | 4573 |                   |     |   |     |
| 1098935 | 1285 | 1300 | CTCCCGCCTGGAACGC  | 89  | G | 564 |
|         | 4581 | 4596 |                   |     |   |     |
| 1098939 | 1330 | 1345 | CCCCTCTAGGTCTCCC  | 69  | G | 565 |
|         | 4626 | 4641 |                   |     |   |     |
| 1098943 | 1335 | 1350 | TTCCGCCCTCTAGGT   | 80  | G | 566 |
|         | 4631 | 4646 |                   |     |   |     |
| 1098947 | 1341 | 1356 | CCGTCCTTCCGCCCCCT | 63  | G | 567 |
|         | 4637 | 4652 |                   |     |   |     |

【 0 5 9 4 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 6】

|         |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1098952 | 1346 | 1361 | TCCGCCCCGTCCCTCCG | 76  | G | 568 |
|         | 4642 | 4657 |                   |     |   |     |
| 1098956 | 1352 | 1367 | CGTCCCTCCGCCCCGTC | 100 | G | 569 |
|         | 4648 | 4663 |                   |     |   |     |
| 1098960 | 4748 | 4763 | CCCCGTCCCCCGGCTC  | 70  | G | 570 |
| 1098964 | 1495 | 1510 | CCCGGAGGCCGAGGAC  | 72  | G | 571 |
|         | 4788 | 4803 |                   |     |   |     |
| 1098968 | 1502 | 1517 | CGCTACTCCCGGAGGC  | 73  | G | 572 |
|         | 4795 | 4810 |                   |     |   |     |
| 1098972 | 1507 | 1522 | GGTCCCGCTACTCCCG  | 97  | G | 573 |
|         | 4800 | 4815 |                   |     |   |     |
| 1098976 | 1549 | 1564 | CTCAGCCCGCGCCGGA  | 64  | G | 574 |
|         | 4842 | 4857 |                   |     |   |     |
| 1098981 | 1554 | 1569 | CAGCCCTCAGCCCGCG  | 154 | G | 575 |
|         | 4847 | 4862 |                   |     |   |     |
| 1098985 | 1573 | 1588 | GGCGCGGCGGCTGTGG  | 128 | G | 576 |
|         | 4866 | 4881 |                   |     |   |     |
| 1098989 | 4882 | 4897 | TGGTGCCCCGCGCGCC  | 91  | G | 577 |
| 1098994 | 4908 | 4923 | TGGGCCCCGGAACCGG  | 118 | G | 578 |
| 1098998 | 1635 | 1650 | CCCGGAGGAAACCGCC  | 149 | G | 579 |
|         | 4931 | 4946 |                   |     |   |     |
| 1099002 | 1660 | 1675 | GGCAACCCGAGTCCCG  | 64  | G | 580 |
|         | 4956 | 4971 |                   |     |   |     |
| 1099006 | 4975 | 4990 | GCGCGGGTGAAGACCC  | 167 | G | 581 |
| 1099010 | 1737 | 1752 | GCTGTGCGCCTCGCGC  | 63  | G | 582 |
|         | 5033 | 5048 |                   |     |   |     |
| 1099014 | 1755 | 1770 | GGCTCCTCCGTGGCCG  | 112 | G | 583 |
|         | 5051 | 5066 |                   |     |   |     |
| 1099018 | 1817 | 1832 | GCCGCCTTGCGGAGGG  | 101 | G | 584 |
|         | 5113 | 5128 |                   |     |   |     |
| 1099022 | 1821 | 1836 | ACAGGCCGCCTTGCGG  | 64  | G | 585 |
|         | 5117 | 5132 |                   |     |   |     |
| 1099026 | 1887 | 1902 | CCCGCAGAGCTCCGGG  | 183 | G | 586 |
|         | 5183 | 5198 |                   |     |   |     |
| 1099031 | 1892 | 1907 | GGGTGCCCCGAGAGCT  | 110 | G | 587 |
|         | 5188 | 5203 |                   |     |   |     |
| 1099035 | 1896 | 1911 | TTCCGGGTGCCCCGAG  | 108 | G | 588 |
|         | 5192 | 5207 |                   |     |   |     |
| 1099039 | 1924 | 1939 | TGCCGGGCTTGCACCC  | 105 | G | 589 |
|         | 5220 | 5235 |                   |     |   |     |
| 1099043 | 5224 | 5239 | ACCGTGCCGGGCTTGC  | 60  | G | 590 |
| 1099047 | 5232 | 5247 | GCGAAGGCACCGTGCC  | 112 | G | 591 |

【 0 5 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

|         |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1099143 | 7308 | 7323 | CGGCCCTGCCCCGAAC  | 120 | G | 592 |
| 1099155 | 7809 | 7824 | TCCGCGCTGGCAGCTG  | 94  | G | 593 |
| 1099159 | 7813 | 7828 | GAGCTCCGCGCTGGCA  | 103 | G | 594 |
| 1099163 | 7817 | 7832 | CCAGGAGCTCCGCGCT  | 87  | G | 595 |
| 1098919 | 1207 | 1222 | GCACCTGGGCGGCTGC  | 84  | H | 596 |
|         | 4503 | 4518 |                   |     |   |     |
| 1098924 | 1233 | 1248 | GTTCCGCCGCCAGGCG  | 78  | H | 597 |
|         | 4529 | 4544 |                   |     |   |     |
| 1098928 | 1259 | 1274 | CGGTGTGCGCCGGGCC  | 78  | H | 598 |
|         | 4555 | 4570 |                   |     |   |     |
| 1098932 | 1263 | 1278 | TCCCCGGTGTGCGCCG  | 59  | H | 599 |
|         | 4559 | 4574 |                   |     |   |     |
| 1098936 | 1286 | 1301 | CCTCCCGCCTGGAACG  | 77  | H | 600 |
|         | 4582 | 4597 |                   |     |   |     |
| 1098940 | 1331 | 1346 | GCCCCCTAGGTCTCC   | 68  | H | 601 |
|         | 4627 | 4642 |                   |     |   |     |
| 1098944 | 1338 | 1353 | TCCTTCCGCCCCCTCTA | 63  | H | 602 |
|         | 4634 | 4649 |                   |     |   |     |
| 1098949 | 1343 | 1358 | GCCCCGTCCTCCGCCC  | 46  | H | 603 |
|         | 4639 | 4654 |                   |     |   |     |
| 1098953 | 1348 | 1363 | CCTCCGCCCGTCCTTC  | 68  | H | 604 |
|         | 4644 | 4659 |                   |     |   |     |
| 1098957 | 4745 | 4760 | CGTCCCCCGGCTCCCT  | 69  | H | 605 |
| 1098961 | 4749 | 4764 | CCCCCGTCCCCCGGCT  | 79  | H | 606 |
| 1098965 | 1499 | 1514 | TACTCCCGGAGGCCGA  | 60  | H | 607 |
|         | 4792 | 4807 |                   |     |   |     |
| 1098969 | 1504 | 1519 | CCCGCTACTCCCGGAG  | 58  | H | 608 |
|         | 4797 | 4812 |                   |     |   |     |
| 1098973 | 1508 | 1523 | GGGTCCCGCTACTCCC  | 84  | H | 609 |
|         | 4801 | 4816 |                   |     |   |     |
| 1098977 | 1550 | 1565 | CCTCAGCCCGCGCCGG  | 61  | H | 610 |
|         | 4843 | 4858 |                   |     |   |     |
| 1098982 | 1570 | 1585 | GCGGCGGCTGTGGGCC  | 75  | H | 611 |
|         | 4863 | 4878 |                   |     |   |     |
| 1098986 | 1574 | 1589 | CGGCGCGGCGGCTGTG  | 49  | H | 612 |
|         | 4867 | 4882 |                   |     |   |     |
| 1098990 | 4883 | 4898 | GTGGTGCCCCGCCGGC  | 65  | H | 613 |
| 1098995 | 4909 | 4924 | CTGGGCCCCGGAACCG  | 67  | H | 614 |
| 1098999 | 1655 | 1670 | CCCGAGTCCCGGTCTT  | 61  | H | 615 |
|         | 4951 | 4966 |                   |     |   |     |
| 1099003 | 1666 | 1681 | CCCGACGGCAACCCGA  | 51  | H | 616 |
|         | 4962 | 4977 |                   |     |   |     |

【 0 5 9 6 】

10

20

30

40

50

【表 4－8】

|         |      |      |                  |     |   |     |
|---------|------|------|------------------|-----|---|-----|
| 1099007 | 1734 | 1749 | GTCGGCCTCGCGCCGC | 76  | H | 617 |
|         | 5030 | 5045 |                  |     |   |     |
| 1099011 | 1738 | 1753 | GGCTGTCGGCCTCGCG | 90  | H | 618 |
|         | 5034 | 5049 |                  |     |   |     |
| 1099015 | 1760 | 1775 | CGTGTGGCTCCTCCGT | 24  | H | 619 |
|         | 5056 | 5071 |                  |     |   |     |
| 1099019 | 1818 | 1833 | GGCCGCCTTGCGGAGG | 73  | H | 620 |
|         | 5114 | 5129 |                  |     |   |     |
| 1099023 | 1863 | 1878 | GTCGGCATGGCCAGCC | 113 | H | 621 |
|         | 5159 | 5174 |                  |     |   |     |
| 1099027 | 1888 | 1903 | GCCCCGAGAGCTCCGG | 87  | H | 622 |
|         | 5184 | 5199 |                  |     |   |     |
| 1099032 | 1893 | 1908 | CGGGTGCCCCGAGAGC | 91  | H | 623 |
|         | 5189 | 5204 |                  |     |   |     |
| 1099036 | 1897 | 1912 | TTTCCGGGTGCCCGCA | 41  | H | 624 |
|         | 5193 | 5208 |                  |     |   |     |
| 1099040 | 5221 | 5236 | GTGCCGGGCTTGCACC | 81  | H | 625 |
| 1099044 | 5226 | 5241 | GCACCGTGCCGGGCTT | 60  | H | 626 |
| 1099048 | 2034 | 2049 | AGGAGATGCCTCCCCG | 46  | H | 627 |
|         | 5330 | 5345 |                  |     |   |     |
| 1099144 | 7309 | 7324 | ACGGCCCTGCCCCGAA | 93  | H | 628 |
| 1099156 | 7810 | 7825 | CTCCGCGCTGGCAGCT | 47  | H | 629 |
| 1099160 | 7814 | 7829 | GGAGCTCCGCGCTGGC | 82  | H | 630 |
| 1099164 | 7818 | 7833 | GCCAGGAGCTCCGCGC | 59  | H | 631 |

## 【0597】

実施例 3：54－2 細胞におけるヒト DUX4 の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的阻害

上記の実施例から選択された修飾オリゴヌクレオチドを、54－2 細胞（本明細書の上記）において様々な用量で試験した。1 ウェルあたり 6,000 細胞の密度でプレーティングした 54－2 細胞を分化させ（本明細書で上記した通り）、以下の表に指定する様々な濃度の修飾オリゴヌクレオチドで、cytofectin を使用して処理した。約 24 時間の処理期間の後、全 RNA を細胞から単離し、DUX4 RNA レベルを定量的リアルタイム RTPCR によって測定した。ヒト DUX4 プライマー・プローブセット RTS3502（本明細書の上記）を使用して、RNA レベルを上記の通りに測定した。DUX4 RNA レベルを、RIBOGREEN（登録商標）で測定した全 RNA 含有量に対して正規化した。DUX4 RNA の低減を、未処理の対照細胞における DUX4 RNA の量に対する DUX4 RNA パーセント（%UTC）として以下の表に示す。

## 【0598】

各修飾オリゴヌクレオチドの半数最大阻害濃度（IC<sub>50</sub>）を、Excel のデータの対数／線形プロットに線形回帰を使用して計算し、これも以下の表に示す。

## 【0599】

10

20

30

40

50

## 【表 5】

表 5

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 RNA (% UTC) |            |            |             |             | IC <sub>50</sub><br>(μM) |
|-----------|------------------|------------|------------|-------------|-------------|--------------------------|
|           | 18.75<br>nM      | 37.5<br>nM | 75.0<br>nM | 150.0<br>nM | 300.0<br>nM |                          |
| 541109    | 104              | 103        | 88         | 63          | 36          | 0.23                     |
| 541114    | 101              | 100        | 71         | 44          | 17          | 0.13                     |
| 541117    | 89               | 85         | 77         | 62          | 28          | 0.18                     |
| 541135    | 87               | 88         | 81         | 62          | 33          | 0.21                     |
| 541146    | 114              | 96         | 90         | 60          | 35          | 0.21                     |
| 541170    | 124              | 120        | 98         | 79          | 51          | > 0.3                    |
| 541176    | 104              | 100        | 83         | 40          | 20          | 0.14                     |
| 541200    | 100              | 113        | 81         | 56          | 36          | 0.21                     |
| 541204    | 88               | 76         | 62         | 43          | 30          | 0.12                     |
| 541205    | 80               | 80         | 65         | 46          | 29          | 0.12                     |
| 541222    | 90               | 95         | 63         | 39          | 29          | 0.13                     |
| 541255    | 134              | 111        | 108        | 87          | 59          | > 0.3                    |
| 541259    | 116              | 111        | 89         | 44          | 29          | 0.17                     |
| 541260    | 100              | 95         | 90         | 42          | 18          | 0.14                     |

## 【0600】

実施例 4：54-2 細胞におけるヒト DUX4 の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的阻害

上記の実施例から選択された修飾オリゴヌクレオチドを、54-2 細胞（本明細書の上記）において様々な用量で試験した。1 ウェルあたり 10,000 細胞の密度でプレーティングした 54-2 細胞を分化させ（本明細書で上記した通り）、以下の表に指定する様々な濃度の修飾オリゴヌクレオチドで、cytofectin を使用して処理した。約 24 時間の処理期間の後、全 RNA を細胞から単離し、DUX4 RNA レベルを定量的リアルタイム RTPCR によって測定した。ヒト DUX4 プライマー・プローブセット RTS3502（本明細書の上記）を使用して、RNA レベルを上記の通りに測定した。DUX4 RNA レベルを、RIBOGREEN（登録商標）で測定した全 RNA 含有量に対して正規化した。DUX4 RNA の低減を、未処理の対照細胞における DUX4 RNA の量に対する DUX4 RNA パーセント（%UTC）として以下の表に示す。これらの修飾オリゴヌクレオチドを、同じ培養条件を有する一連の実験で試験し、実験ごとの結果を以下の別の表に示す。

## 【0601】

各修飾オリゴヌクレオチドの半数最大阻害濃度（IC<sub>50</sub>）を、Excel のデータの対数／線形プロットに線形回帰を使用して計算し、これも以下の表に示す。

## 【0602】

10

20

30

40

50

## 【表 6】

表 6

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 RNA (% UTC) |            |             |             |             | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) |
|-----------|------------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------------|
|           | 25.0<br>nM       | 50.0<br>nM | 100.0<br>nM | 200.0<br>nM | 400.0<br>nM |                                |
| 541114    | 83               | 62         | 69          | 42          | 20          | 0.13                           |
| 613801    | 98               | 98         | 74          | 52          | 28          | 0.21                           |
| 613802    | 99               | 78         | 93          | 56          | 58          | > 0.4                          |
| 613804    | 70               | 59         | 51          | 33          | 23          | 0.08                           |
| 613807    | 90               | 91         | 68          | 54          | 25          | 0.19                           |
| 613823    | 102              | 102        | 93          | 75          | 43          | > 0.4                          |
| 613831    | 75               | 55         | 46          | 21          | 15          | 0.07                           |
| 613834    | 89               | 69         | 67          | 50          | 31          | 0.18                           |
| 613841    | 97               | 65         | 50          | 35          | 17          | 0.11                           |
| 613844    | 96               | 80         | 50          | 49          | 26          | 0.15                           |
| 613849    | 93               | 87         | 77          | 62          | 29          | 0.24                           |
| 613851    | 72               | 59         | 53          | 46          | 31          | 0.12                           |
| 613855    | 90               | 69         | 59          | 40          | 24          | 0.13                           |
| 613867    | 76               | 74         | 59          | 48          | 23          | 0.14                           |

10

20

## 【0603】

## 【表 7】

表 7

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 RNA (% UTC) |            |             |             |             | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) |
|-----------|------------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------------|
|           | 25.0<br>nM       | 50.0<br>nM | 100.0<br>nM | 200.0<br>nM | 400.0<br>nM |                                |
| 541114    | 82               | 64         | 77          | 46          | 31          | 0.18                           |
| 613879    | 94               | 79         | 62          | 56          | 28          | 0.18                           |
| 613882    | 90               | 86         | 96          | 68          | 30          | 0.34                           |
| 613885    | 67               | 82         | 80          | 39          | 27          | 0.16                           |
| 613886    | 96               | 67         | 58          | 61          | 33          | 0.20                           |
| 613887    | 90               | 64         | 57          | 45          | 34          | 0.15                           |
| 613895    | 78               | 85         | 82          | 66          | 51          | > 0.4                          |
| 613910    | 79               | 89         | 46          | 45          | 13          | 0.12                           |
| 613913    | 85               | 94         | 75          | 61          | 36          | 0.29                           |
| 613916    | 101              | 69         | 60          | 56          | 41          | 0.22                           |
| 613922    | 90               | 66         | 69          | 49          | 45          | 0.25                           |
| 613942    | 40               | 41         | 31          | 28          | 13          | < 0.025                        |
| 613949    | 118              | 77         | 92          | 79          | 52          | > 0.4                          |
| 613956    | 91               | 81         | 70          | 48          | 42          | 0.24                           |

30

40

## 【0604】

50

## 【表 8】

表 8

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 RNA (% UTC) |       |        |        | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) |
|-----------|------------------|-------|--------|--------|--------------------------------|
|           | 19 nM            | 56 nM | 167 nM | 500 nM |                                |
| 613910    | 65               | 38    | 21     | 15     | 0.04                           |
| 1098882   | 80               | 50    | 19     | 8      | 0.06                           |
| 1098904   | 99               | 52    | 20     | 7      | 0.08                           |
| 1098909   | 83               | 68    | 63     | 77     | > 0.5                          |
| 1098912   | 47               | 25    | 13     | 9      | < 0.02                         |
| 1098941   | 40               | 28    | 13     | 13     | < 0.02                         |
| 1099009   | 74               | 59    | 22     | 6      | 0.06                           |
| 1099081   | 63               | 37    | 20     | 11     | 0.03                           |
| 1099102   | 64               | 43    | 28     | 22     | 0.04                           |
| 1099109   | 104              | 64    | 22     | 12     | 0.10                           |
| 1099110   | 78               | 55    | 39     | 33     | 0.11                           |
| 1099121   | 64               | 48    | 34     | 26     | 0.05                           |
| 1099126   | 79               | 43    | 18     | 7      | 0.05                           |
| 1099133   | 70               | 54    | 27     | 15     | 0.06                           |
| 1099138   | 69               | 38    | 15     | 7      | 0.04                           |
| 1099149   | 92               | 44    | 19     | 9      | 0.07                           |
| 1099150   | 72               | 36    | 19     | 9      | 0.04                           |
| 1099183   | 86               | 51    | 18     | 11     | 0.07                           |

【 0 6 0 5 】

10

20

30

40

50

## 【表 9】

表 9

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 RNA (% UTC) |       |        |        | IC <sub>50</sub><br>(μM) |
|-----------|------------------|-------|--------|--------|--------------------------|
|           | 19 nM            | 56 nM | 167 nM | 500 nM |                          |
| 1098881   | 80               | 71    | 31     | 10     | 0.09                     |
| 1098894   | 111              | 81    | 19     | 6      | 0.11                     |
| 1098895   | 65               | 45    | 23     | 13     | 0.04                     |
| 1098907   | 82               | 58    | 21     | 7      | 0.07                     |
| 1098910   | 61               | 40    | 17     | 8      | 0.03                     |
| 1099015   | 68               | 45    | 16     | 6      | 0.04                     |
| 1099043   | 40               | 24    | 8      | 4      | <0.02                    |
| 1099080   | 118              | 82    | 25     | 13     | 0.13                     |
| 1099107   | 42               | 24    | 10     | 4      | <0.02                    |
| 1099108   | 67               | 62    | 26     | 10     | 0.06                     |
| 1099132   | 69               | 61    | 31     | 9      | 0.07                     |
| 1099139   | 152              | 90    | 15     | 5      | 0.13                     |
| 1099140   | 57               | 33    | 15     | 8      | 0.02                     |
| 1099147   | 151              | 64    | 18     | 8      | 0.13                     |
| 1099148   | 60               | 39    | 31     | 18     | 0.03                     |
| 1099151   | 163              | 92    | 20     | 5      | 0.14                     |
| 1099180   | 95               | 38    | 16     | 9      | 0.06                     |
| 1099184   | 76               | 54    | 20     | 11     | 0.06                     |

## 【0606】

実施例 5：ヒト DUX4 核酸に相補的な修飾オリゴヌクレオチドの設計

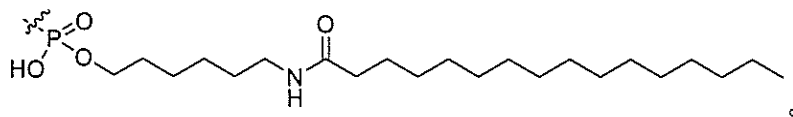
ヒト DUX4 核酸に相補的な修飾オリゴヌクレオチドを、以下の表に記載の通りに設計した。

## 【0607】

表 10 の修飾オリゴヌクレオチドは、ホスホジエステルリンカーを介してオリゴヌクレオチドの 5' -OH に結合した 6-パルミタミドヘキシルコンジュゲート部分にコンジュゲートした 3'-10-3 cEt ギャップマーである。このコンジュゲート基の構造は、以下である：

## 【0608】

## 【化 20】



## 【0609】

このギャップマーは、16ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは、10個の 2'-β-D-デオキシヌクレオシドからなり、5' 及び 3' のウイングは、各々 3 個の cEt ヌクレオシドからなる。このギャップマーの糖モチーフは (5' から 3' へ) : k k k d d d d d d d d k k k であり、ここで、「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、「k」は、cEt 糖部分を表す。各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。

## 【0610】

10

20

30

40

50

「開始部位」は、標的核酸配列において、修飾オリゴヌクレオチドが相補的である最も 5' 側のヌクレオシドを示す。「終結部位」は、標的核酸配列において、修飾オリゴヌクレオチドが相補的である最も 3' 側のヌクレオシドを示す。以下の表に記載されている修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1（本明細書の上記）、及び配列番号 2（本明細書の上記）に 100% 相補的である。

【0611】

【表10】

表 10

ヒト DUX4 に相補的な PS ヌクレオシド間結合を有する 6-パルミタミドヘキシルコンジュゲート 3-10-3 cEt ギャップマー

| 化合物 ID | 親化合物   | 配列番号 1<br>開始部位 | 配列番号 1<br>終結部位 | 配列番号 2<br>開始部位 | 配列番号 2<br>終結部位 | 配列(5'から 3')       | 配列番号 |
|--------|--------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------|------|
| 941806 | 613910 | 2899           | 2914           | 126            | 141            | GGCGATGCCCCGGGTAC | 248  |

10

【0612】

実施例 6：トランスジェニックマウスにおけるヒト DUX4 に相補的な修飾オリゴヌクレオチドの活性

20

ヒト DUX4 を発現するトランスジェニックマウスを使用して、上記の修飾オリゴヌクレオチドの活性を試験した。このトランスジェニックマウスモデルは、線状にした修飾ヒト DUX4 遺伝子のランダムインテグレーションを使用して開発された。そのクローンを AseI 及び XhoI の制限酵素認識部位で消化し、F67A の単一アミノ酸変異を有する Mck（筋特異的）プロモーター駆動ヒト DUX4 導入遺伝子を含む領域を生成した。その遺伝子断片を、C57BL6NJ 系マウスの受精卵に前核注入により導入し、7つの樹立系統を生成した。本明細書に記載の実験では系統 9111 を使用した。ヒト DUX4 RNA 発現は、このモデルの筋肉で見られる。

【0613】

30

処理

4 匹のトランスジェニックマウス群の各動物に、50 mg / kg の化合物番号 941806 を週 2 回、合計 6 回の皮下注射により投与した。4 匹のマウスの 1 つの群には、陰性対照として PBS を投与した。

【0614】

RNA 分析

最終投与後 72 時間でマウスを殺し、RT-PCR 分析用の RNA を大腿四頭筋、腹横筋（TA）、及び腓腹筋から抽出し、DUX4 RNA の量をヒトプライマー・プローブセット RTS3502（本明細書の上記）を使用して測定した。結果は、マウス GAPDH に対して正規化した、PBS 対照に対するヒト DUX4 RNA のパーセント（% 対照）として表す。マウス GAPDH RNA は、マウスプライム・プローブセット mGapdh\_\_LTS00102（順方向配列 GGCAAAATTC AACGGGCACAGT、本明細書では配列番号 14 として指定、逆方向配列 GGGTCTCGCTCCTGGAAAGAT、本明細書では配列番号 15 として指定、プローブ配列 AAGGCCGAGAAATGGGAAGCTTGTCATC、本明細書では配列番号 16 として指定）を使用して増幅した。

40

【0615】

50



【 0 6 2 0 】

【 表 1 2 - 1 】

表 12

分化した 54-2 細胞における均一ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する 3-10-3 cEt 修飾オリゴヌクレオチドによるヒト DUX4 RNA の低減

| 化合物<br>番号 | 配列<br>番号 1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 1<br>終結<br>部位 | 配列<br>番号 2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 2<br>終結<br>部位 | 配列(5'から 3')      | DUX4<br>(%<br>UTC) | 分析<br>ID | 配列<br>番号 |
|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------|--------------------|----------|----------|
| 1098912   | 4513                   | 4528                   | N/A                    | N/A                    | AGAGGAGGCGAGCCGC | 25                 | I        | 301      |
| 1582463   | 4841                   | 4856                   | N/A                    | N/A                    | ATGCAAATCTTCTATA | 55                 | I        | 632      |
| 1582480   | 3632                   | 3647                   | 859                    | 874                    | CCGCTTGAGCGGGCCC | 28                 | I        | 633      |
| 1582486   | 3639                   | 3654                   | 866                    | 881                    | TGCGGCCCCGCTTGAG | 39                 | I        | 634      |
| 1582493   | 3658                   | 3673                   | 885                    | 900                    | CGCAAGCACCCCTTGG | 22                 | I        | 635      |
| 1582496   | 2718                   | 2733                   | N/A                    | N/A                    | CAGAGAGAGGCCGGCG | 38                 | I        | 636      |
| 1582500   | 3684                   | 3699                   | 911                    | 926                    | CACGGACTCCCCTGGG | 39                 | I        | 637      |
| 1582506   | 3721                   | 3736                   | 948                    | 963                    | CGCCCCGGCGACCTGG | 66                 | I        | 638      |
| 1582513   | 3727                   | 3742                   | 954                    | 969                    | CCACGCCGCCCGGCG  | 66                 | I        | 639      |
| 1582519   | 2729                   | 2744                   | N/A                    | N/A                    | ACGGACGCGGCAGAG  | 79                 | I        | 640      |
| 1582525   | 3793                   | 3808                   | 1020                   | 1035                   | CCGCGCGGAGGCGGAG | 57                 | I        | 641      |
| 1582531   | 3820                   | 3835                   | 1047                   | 1062                   | CGCCGGGATGCCTTGC | 29                 | I        | 642      |
| 1582539   | 3847                   | 3862                   | 1074                   | 1089                   | CGCCGGCTCCTGGAGC | 73                 | I        | 643      |
| 1582546   | 3857                   | 3872                   | 1084                   | 1099                   | CAGACCAGGGCGCCGG | 35                 | I        | 644      |
| 1582549   | 2740                   | 2755                   | N/A                    | N/A                    | GAATTTACGGACGGA  | 22                 | I        | 645      |
| 1582555   | 3898                   | 3913                   | 1125                   | 1140                   | GCTCGCCAGGAGCTCA | 20                 | I        | 646      |
| 1582562   | 3909                   | 3924                   | 1136                   | 1151                   | AGAAACTCCGGGCTCG | 16                 | I        | 647      |
| 1582570   | 3931                   | 3946                   | 1158                   | 1173                   | TAGGAGAGGTTGCGCC | 53                 | I        | 648      |
| 1582576   | 3938                   | 3953                   | 1165                   | 1180                   | CCGTTTCTAGGAGAGG | 25                 | I        | 649      |
| 1582579   | 2747                   | 2762                   | N/A                    | N/A                    | CCGGCCGGAATTTAC  | 46                 | I        | 650      |
| 1582586   | 3982                   | 3997                   | 1209                   | 1224                   | CAGCGAGGCGGCCTCT | 20                 | I        | 651      |
| 1582592   | 4012                   | 4027                   | 1239                   | 1254                   | CCGGTATTCTTCCTCG | 35                 | I        | 652      |
| 1582598   | 4021                   | 4036                   | 1248                   | 1263                   | CAGCAGAGCCCGGTAT | 17                 | I        | 653      |
| 1582610   | N/A                    | N/A                    | 1440                   | 1455                   | TTCTCCGCGGTGTGGA | 54                 | I        | 654      |
| 1582617   | 2809                   | 2824                   | 36                     | 51                     | TCCCCGGGCTTCCGCG | 59                 | I        | 655      |
| 1582628   | 4602                   | 4617                   | N/A                    | N/A                    | AGGTATGCTTTTGACC | 38                 | I        | 656      |
| 1582634   | 4622                   | 4637                   | N/A                    | N/A                    | AAGCGGGCAAAGACAG | 35                 | I        | 657      |
| 1582646   | 4671                   | 4686                   | 1536                   | 1551                   | CTCCCTTGACGTCAG  | 20                 | I        | 658      |
| 1582652   | 4703                   | 4718                   | 1568                   | 1583                   | CGGAAGAACAAGGGCA | 11†                | I        | 659      |
| 1582658   | 4710                   | 4725                   | 1575                   | 1590                   | AATTTACGGAAGAAC  | 19†                | I        | 660      |
| 1582664   | 4717                   | 4732                   | 1582                   | 1597                   | CAGCCAGAATTTACG  | 15                 | I        | 661      |
| 1582671   | 4748                   | 4763                   | 1613                   | 1628                   | TAGACAGCGTCGGAAG | 12†                | I        | 662      |
| 1582677   | 4764                   | 4779                   | 1629                   | 1644                   | CTAATCCAGGTTTGCC | 5†                 | I        | 663      |

【 0 6 2 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

|         |      |      |      |      |                  |    |   |     |
|---------|------|------|------|------|------------------|----|---|-----|
| 1582683 | 4771 | 4786 | 1636 | 1651 | TGTAACCTAATCCAG  | 10 | I | 664 |
| 1582689 | 4780 | 4795 | 1645 | 1660 | TCCAGGAGATGTAAC  | 12 | I | 665 |
| 1582695 | 4788 | 4803 | 1653 | 1668 | ACTAATCATCCAGGAG | 11 | I | 666 |
| 1582701 | 4794 | 4809 | 1659 | 1674 | CTCTGAACTAATCATC | 21 | I | 667 |
| 1582704 | 2835 | 2850 | 62   | 77   | CAAACGAGTCTCCGTC | 18 | I | 668 |
| 1582710 | 2865 | 2880 | 92   | 107  | GCTCGCAGGGCCTCGC | 21 | I | 669 |
| 1582716 | 2877 | 2892 | 104  | 119  | CGCTCAAAGCAGGCTC | 47 | I | 670 |
| 1582722 | 2897 | 2912 | 124  | 139  | CGATGCCCGGGTACGG | 11 | I | 671 |
| 1582729 | 2934 | 2949 | 161  | 176  | GGAATGCCGATGGCCT | 22 | I | 672 |
| 1582735 | 2955 | 2970 | 182  | 197  | CAAATCTGGACCCTGG | 20 | I | 673 |
| 1582741 | 2980 | 2995 | 207  | 222  | CTGGCGTGACCTCTCA | 24 | I | 674 |
| 1582747 | 3008 | 3023 | 235  | 250  | GCCGAGATTCCCGCCG | 65 | I | 675 |
| 1582753 | 3033 | 3048 | 260  | 275  | GGCGGGCCCGCTCTCC | 65 | I | 676 |
| 1582759 | 3068 | 3083 | 295  | 310  | ATCCGGTGACGGCGGT | 24 | I | 677 |
| 1582765 | 3097 | 3112 | 324  | 339  | AAAGGCTCGGAGGAGC | 29 | I | 678 |
| 1582771 | 3104 | 3119 | 331  | 346  | CCTTCTCAAAGGCTCG | 13 | I | 679 |
| 1582777 | 3115 | 3130 | 342  | 357  | TGGAAGCGATCCTTC  | 20 | I | 680 |
| 1582783 | 3121 | 3136 | 348  | 363  | GATGCCTGGAAGCGA  | 20 | I | 681 |
| 1582789 | 3132 | 3147 | 359  | 374  | TCCCGGGCGGCGATGC | 69 | I | 682 |
| 1582795 | 3162 | 3177 | 389  | 404  | TCCGGGAGGCCCGTCT | 40 | I | 683 |
| 1582801 | 3176 | 3191 | 403  | 418  | TCTGAATCCTGGACTC | 11 | I | 684 |
| 1582807 | 3221 | 3236 | 448  | 463  | TGCCACCCTGTCCCGG | 43 | I | 685 |
| 1582813 | 3235 | 3250 | 462  | 477  | CTGCGCGGGCGCCCTG | 61 | I | 686 |
| 1582819 | 3260 | 3275 | 487  | 502  | GGGCCGCGCTGCACAG | 32 | I | 687 |
| 1582825 | 3294 | 3309 | 521  | 536  | GCGACCCACGAGGGAG | 47 | I | 688 |
| 1582831 | 3300 | 3315 | 527  | 542  | GCGAAGGCGACCCACG | 24 | I | 689 |
| 1582837 | 3313 | 3328 | 540  | 555  | CGCGCCGGTGTGGGCG | 50 | I | 690 |
| 1582843 | 3320 | 3335 | 547  | 562  | TTCCCCACGCGCCGGT | 24 | I | 691 |
| 1582850 | 3333 | 3348 | 560  | 575  | GCGGGAAGCCCCGTTC | 69 | I | 692 |
| 1582853 | 2686 | 2701 | N/A  | N/A  | AGCCGGACTGTGCACT | 45 | I | 693 |
| 1582858 | 3355 | 3370 | 582  | 597  | AGGCGCGCAGGGCACG | 20 | I | 694 |
| 1582864 | 3362 | 3377 | 589  | 604  | GAGCCCCAGGCGCGCA | 20 | I | 695 |
| 1582870 | 3379 | 3394 | 606  | 621  | GAAAGCCCCCTGTGGG | 44 | I | 696 |
| 1582877 | 3385 | 3400 | 612  | 627  | GCTCACGAAAGCCCCC | 16 | I | 697 |
| 1582883 | 3445 | 3460 | 672  | 687  | GATCCCCTCTGCCGGC | 88 | I | 698 |
| 1582890 | 3475 | 3490 | 702  | 717  | GAAATCCCCGCGCGCC | 33 | I | 699 |
| 1582896 | 3483 | 3498 | 710  | 725  | GCGTAGGCGAAATCCC | 26 | I | 700 |
| 1582902 | 3502 | 3517 | 729  | 744  | GTCCGGAGGAGCCGGG | 28 | I | 701 |
| 1582908 | 3509 | 3524 | 736  | 751  | GCGCCCCGTCCGAGG  | 55 | I | 702 |
| 1582914 | 3549 | 3564 | 776  | 791  | CCCGGGTGCGGAGGCC | 74 | I | 703 |

【 0 6 2 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 3】

|         |      |      |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1582920 | 3577 | 3592 | 804  | 819  | CTGCGGGTCCCGGTCC  | 38  | I | 704 |
| 1582927 | 3597 | 3612 | 824  | 839  | GGGCCCCGGCAGGCCGT | 81  | I | 705 |
| 1098912 | 4513 | 4528 | N/A  | N/A  | AGAGGAGGCGAGCCGC  | 27  | J | 301 |
| 1582462 | 4840 | 4855 | N/A  | N/A  | TGCAAACTCTTCTATAG | 55  | J | 706 |
| 1582479 | 3631 | 3646 | 858  | 873  | CGCTTGAGCGGGCCCA  | 78  | J | 707 |
| 1582484 | 3638 | 3653 | 865  | 880  | GCGGCCCCGCTTGAGC  | 44  | J | 708 |
| 1582489 | 2717 | 2732 | N/A  | N/A  | AGAGAGAGGCCGCGG   | 43  | J | 709 |
| 1582492 | 3656 | 3671 | 883  | 898  | CAAGCACCCCTTGGCC  | 37  | J | 710 |
| 1582499 | 3683 | 3698 | 910  | 925  | ACGGACTCCCCTGGGA  | 52  | J | 711 |
| 1582505 | 3692 | 3707 | 919  | 934  | AGCCCCACCACGGACT  | 20  | J | 712 |
| 1582512 | 3726 | 3741 | 953  | 968  | CACGCCGCCCGGCGA   | 58  | J | 713 |
| 1582518 | 2728 | 2743 | N/A  | N/A  | CGGACGCGGGCAGAGA  | 37  | J | 714 |
| 1582524 | 3792 | 3807 | 1019 | 1034 | CGCGCGGAGGCGGAGG  | 70  | J | 715 |
| 1582530 | 3818 | 3833 | 1045 | 1060 | CCGGGATGCCTTG CAT | 52  | J | 716 |
| 1582538 | 3842 | 3857 | 1069 | 1084 | GCTCCTGGAGCGCCTG  | 35  | J | 717 |
| 1582545 | 3856 | 3871 | 1083 | 1098 | AGACCAGGGCGCCGGC  | 48  | J | 718 |
| 1582548 | 2738 | 2753 | N/A  | N/A  | ATTTACGGACGGACG   | 12  | J | 719 |
| 1582554 | 3897 | 3912 | 1124 | 1139 | CTCGCCAGGAGCTCAT  | 13  | J | 720 |
| 1582561 | 3908 | 3923 | 1135 | 1150 | GAAACTCCGGGCTCGC  | 15  | J | 721 |
| 1582569 | 3929 | 3944 | 1156 | 1171 | GGAGAGGTTGCGCCTG  | 18  | J | 722 |
| 1582575 | 3937 | 3952 | 1164 | 1179 | CGTTTCTAGGAGAGGT  | 64  | J | 723 |
| 1582578 | 2746 | 2761 | N/A  | N/A  | CGGCCGGAATTCACG   | 63  | J | 724 |
| 1582585 | 3981 | 3996 | 1208 | 1223 | AGCGAGGCGGCCTCTT  | 14  | J | 725 |
| 1582591 | 4011 | 4026 | 1238 | 1253 | CGGTATTCTTCTCTCGC | 10  | J | 726 |
| 1582597 | 4019 | 4034 | 1246 | 1261 | GCAGAGCCCGGTATTC  | 22  | J | 727 |
| 1582609 | N/A  | N/A  | 1439 | 1454 | TCTCCGCGGTGTGGAG  | 57  | J | 728 |
| 1582616 | 2808 | 2823 | 35   | 50   | CCCCGGGCTTCCGCGG  | 69  | J | 729 |
| 1582627 | 4598 | 4613 | N/A  | N/A  | ATGCTTTTGACCGCCA  | 17  | J | 730 |
| 1582633 | 4621 | 4636 | N/A  | N/A  | AGCGGGCAAAGACAGA  | 17  | J | 731 |
| 1582645 | 4666 | 4681 | 1531 | 1546 | TTGCACGTCAGCCGGG  | 96  | J | 732 |
| 1582651 | 4688 | 4703 | 1553 | 1568 | ACAGAGAGGCCAGCGA  | 17† | J | 733 |
| 1582657 | 4709 | 4724 | 1574 | 1589 | ATTTACGGAAGAACA   | 13† | J | 734 |
| 1582663 | 4716 | 4731 | 1581 | 1596 | AGCCAGAATTTACGG   | 7   | J | 735 |
| 1582670 | 4747 | 4762 | 1612 | 1627 | AGACAGCGTCGGAAGG  | 8†  | J | 736 |
| 1582676 | 4763 | 4778 | 1628 | 1643 | TAATCCAGGTTTGCCT  | 8   | J | 737 |
| 1582682 | 4769 | 4784 | 1634 | 1649 | TAACTCTAATCCAGGT  | 18  | J | 738 |
| 1582688 | 4776 | 4791 | 1641 | 1656 | GGAGATGTAACTCTAA  | 11  | J | 739 |
| 1582694 | 4787 | 4802 | 1652 | 1667 | CTAATCATCCAGGAGA  | 10† | J | 740 |
| 1582700 | 4793 | 4808 | 1658 | 1673 | TCTGAACTAATCATCC  | 19† | J | 741 |
| 1582703 | 2834 | 2849 | 61   | 76   | AAACGAGTCTCCGTCG  | 13  | J | 742 |

【0 6 2 3】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 4】

|         |      |      |     |     |                   |    |   |     |
|---------|------|------|-----|-----|-------------------|----|---|-----|
| 1582709 | 2864 | 2879 | 91  | 106 | CTCGCAGGGCCTCGCT  | 31 | J | 743 |
| 1582715 | 2875 | 2890 | 102 | 117 | CTCAAAGCAGGCTCGC  | 23 | J | 744 |
| 1582721 | 2887 | 2902 | 114 | 129 | GTACGGGTTCGCTCA   | 46 | J | 745 |
| 1582728 | 2933 | 2948 | 160 | 175 | GAATGCCGATGGCCTG  | 16 | J | 746 |
| 1582734 | 2953 | 2968 | 180 | 195 | AATCTGGACCCTGGGC  | 27 | J | 747 |
| 1582740 | 2960 | 2975 | 187 | 202 | GAAACCAAATCTGGAC  | 12 | J | 748 |
| 1582746 | 3003 | 3018 | 230 | 245 | GATTCGCCCGGTGCT   | 14 | J | 749 |
| 1582752 | 3028 | 3043 | 255 | 270 | GCCGCGTCTCCCGGGC  | 51 | J | 750 |
| 1582758 | 3061 | 3076 | 288 | 303 | GACGGCGGTCCGCTTT  | 14 | J | 751 |
| 1582764 | 3093 | 3108 | 320 | 335 | GCTCGGAGGAGCAGGG  | 29 | J | 752 |
| 1582770 | 3102 | 3117 | 329 | 344 | TTCTCAAAGGCTCGGA  | 16 | J | 753 |
| 1582776 | 3114 | 3129 | 341 | 356 | GGAAAGCGATCCTTCT  | 35 | J | 754 |
| 1582782 | 3120 | 3135 | 347 | 362 | ATGCCCTGGAAAGCGAT | 28 | J | 755 |
| 1582788 | 3131 | 3146 | 358 | 373 | CCCGGGCGGCGATGCC  | 90 | J | 756 |
| 1582794 | 3161 | 3176 | 388 | 403 | CCGGGAGGCCCGTCTC  | 47 | J | 757 |
| 1582800 | 3175 | 3190 | 402 | 417 | CTGAATCCTGGACTCC  | 6  | J | 758 |
| 1582806 | 3212 | 3227 | 439 | 454 | GTCCCGGTGCCTGGC   | 45 | J | 759 |
| 1582812 | 3234 | 3249 | 461 | 476 | TGCGCGGGCGCCCTGC  | 74 | J | 760 |
| 1582818 | 3259 | 3274 | 486 | 501 | GGCCGCGCTGCACAGG  | 56 | J | 761 |
| 1582824 | 3293 | 3308 | 520 | 535 | CGACCCACGAGGGAGC  | 36 | J | 762 |
| 1582830 | 3299 | 3314 | 526 | 541 | CGAAGGCGACCCACGA  | 28 | J | 763 |
| 1582836 | 3312 | 3327 | 539 | 554 | GCGCCGGTGTGGGCGA  | 45 | J | 764 |
| 1582842 | 3318 | 3333 | 545 | 560 | CCCCACGCGCCGGTGT  | 20 | J | 765 |
| 1582844 | 2684 | 2699 | N/A | N/A | CCGGA CTGTGCACTGC | 61 | J | 766 |
| 1582849 | 3332 | 3347 | 559 | 574 | CGGGAAGCCCCGTTCC  | 54 | J | 767 |
| 1582857 | 3354 | 3369 | 581 | 596 | GGCGCGCAGGGCACGT  | 46 | J | 768 |
| 1582863 | 3361 | 3376 | 588 | 603 | AGCCCCAGGCGCGCAG  | 23 | J | 769 |
| 1582869 | 3378 | 3393 | 605 | 620 | AAAGCCCCCTGTGGGA  | 45 | J | 770 |
| 1582876 | 3384 | 3399 | 611 | 626 | CTCACGAAAGCCCCCT  | 15 | J | 771 |
| 1582882 | 3436 | 3451 | 663 | 678 | TGCCGGCGCGGCCTGG  | 50 | J | 772 |
| 1582889 | 3474 | 3489 | 701 | 716 | AAATCCCCGCGCGCCG  | 35 | J | 773 |
| 1582895 | 3482 | 3497 | 709 | 724 | CGTAGGCGAAATCCCC  | 17 | J | 774 |
| 1582901 | 3488 | 3503 | 715 | 730 | GGCGGCGTAGGCGAA   | 56 | J | 775 |
| 1582907 | 3508 | 3523 | 735 | 750 | CGCCCCGTCCGAGGA   | 19 | J | 776 |
| 1582913 | N/A  | N/A  | 769 | 784 | GCGGAGGCCAGCGAGG  | 36 | J | 777 |
| 1582919 | 3562 | 3577 | 789 | 804 | CTCCCGGCTTTTGCCC  | 31 | J | 778 |
| 1582926 | 3595 | 3610 | 822 | 837 | GCCCGGCAGGCCGTCG  | 78 | J | 779 |
| 1098912 | 4513 | 4528 | N/A | N/A | AGAGGAGGCGAGCCGC  | 20 | K | 301 |
| 1582461 | 4839 | 4854 | N/A | N/A | GCAAATCTTCTATAGG  | 37 | K | 780 |
| 1582478 | 3629 | 3644 | 856 | 871 | CTTGAGCGGGCCCAGG  | 20 | K | 781 |

【 0 6 2 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 5】

|         |      |      |      |      |                   |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|-----|
| 1582485 | 3636 | 3651 | 863  | 878  | GGCCCCGCTTGAGCGG  | 132 | K | 782 |
| 1582491 | 3654 | 3669 | 881  | 896  | AGCACCCCTTGGCCCT  | 22  | K | 783 |
| 1582498 | 3680 | 3695 | 907  | 922  | GACTCCCCTGGGACGT  | 22  | K | 784 |
| 1582504 | 3688 | 3703 | 915  | 930  | CCACCACGGA CTCCCC | 29  | K | 785 |
| 1582511 | 3725 | 3740 | 952  | 967  | ACGCCGCCCCGGCGAC  | 39  | K | 786 |
| 1582517 | 2727 | 2742 | N/A  | N/A  | GGACGCGGGCAGAGAG  | 58  | K | 787 |
| 1582523 | 3787 | 3802 | 1014 | 1029 | GGAGGCGGAGGCGTCC  | 32  | K | 788 |
| 1582529 | 3800 | 3815 | 1027 | 1042 | GCCCCCTGCCGCGCGGA | 26  | K | 789 |
| 1582537 | 3841 | 3856 | 1068 | 1083 | CTCCTGGAGCGCCTGG  | 19  | K | 790 |
| 1582543 | 2737 | 2752 | N/A  | N/A  | TTTCACGACGGACGC   | 17  | K | 791 |
| 1582544 | 3855 | 3870 | 1082 | 1097 | GACCAGGGCGCCGGCT  | 21  | K | 792 |
| 1582553 | 3896 | 3911 | 1123 | 1138 | TCGCCAGGAGCTCATC  | 21  | K | 793 |
| 1582560 | 3907 | 3922 | 1134 | 1149 | AAACTCCGGGCTCGCC  | 20  | K | 794 |
| 1582567 | 3913 | 3928 | 1140 | 1155 | CTGCAGAACTCCGGG   | 39  | K | 795 |
| 1582568 | 2744 | 2759 | N/A  | N/A  | GCCGGAATTTACGGA   | 13  | K | 796 |
| 1582574 | 3935 | 3950 | 1162 | 1177 | TTTCTAGGAGAGTTG   | 20  | K | 797 |
| 1582583 | 3970 | 3985 | 1197 | 1212 | CTCTCCGAGGCCTCC   | 22  | K | 798 |
| 1582590 | 4008 | 4023 | 1235 | 1250 | TATTCTTCCTCGCTGA  | 17  | K | 799 |
| 1582596 | 4017 | 4032 | 1244 | 1259 | AGAGCCC GGTATTCTT | 16  | K | 800 |
| 1582608 | N/A  | N/A  | 1438 | 1453 | CTCCGCGGTGTGGAGT  | 60  | K | 801 |
| 1582612 | 2784 | 2799 | 11   | 26   | CTGTCCGAGGGTGTCTG | 18  | K | 802 |
| 1582626 | 4597 | 4612 | N/A  | N/A  | TGCTTTTGACCGCCAG  | 26  | K | 803 |
| 1582632 | 4620 | 4635 | N/A  | N/A  | GCGGGCAAAGACAGAC  | 40  | K | 804 |
| 1582644 | 4643 | 4658 | N/A  | N/A  | CTGCGCGCAGGTCTAG  | 74  | K | 805 |
| 1582650 | 4686 | 4701 | 1551 | 1566 | AGAGAGGCCAGCGAGC  | 7†  | K | 806 |
| 1582656 | 4708 | 4723 | 1573 | 1588 | TTTCACGGAAGAACAA  | 12† | K | 807 |
| 1582662 | 4715 | 4730 | 1580 | 1595 | GCCAGAATTTACGGA   | 10† | K | 808 |
| 1582669 | 4745 | 4760 | 1610 | 1625 | ACAGCGTCGGAAGGTG  | 8†  | K | 809 |
| 1582675 | 4752 | 4767 | 1617 | 1632 | TGCCTAGACAGCGTCG  | 5†  | K | 810 |
| 1582681 | 4768 | 4783 | 1633 | 1648 | AACTCTAATCCAGTT   | 13  | K | 811 |
| 1582687 | 4775 | 4790 | 1640 | 1655 | GAGATGTAACTCTAAT  | 19  | K | 812 |
| 1582693 | 4786 | 4801 | 1651 | 1666 | TAATCATCCAGGAGAT  | 15  | K | 813 |
| 1582699 | 4792 | 4807 | 1657 | 1672 | CTGAACTAATCATCCA  | 12  | K | 814 |
| 1582702 | 2833 | 2848 | 60   | 75   | AACGAGTCTCCGTCGC  | 17  | K | 815 |
| 1582708 | 2863 | 2878 | 90   | 105  | TCGCAGGGCCTCGCTT  | 37  | K | 816 |
| 1582714 | 2874 | 2889 | 101  | 116  | TCAAAGCAGGCTCGCA  | 37  | K | 817 |
| 1582720 | 2886 | 2901 | 113  | 128  | TACGGGTTCGCTCAA   | 17  | K | 818 |
| 1582724 | 2644 | 2659 | N/A  | N/A  | CCGGACAGCCAGCCAG  | 42  | K | 819 |
| 1582727 | 2932 | 2947 | 159  | 174  | AATGCCGATGGCCTGG  | 18  | K | 820 |
| 1582733 | 2939 | 2954 | 166  | 181  | GCTCCGGAATGCCGAT  | 19  | K | 821 |

【 0 6 2 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 6】

|         |      |      |     |     |                   |    |   |     |
|---------|------|------|-----|-----|-------------------|----|---|-----|
| 1582739 | 2959 | 2974 | 186 | 201 | AAACCAAATCTGGACC  | 26 | K | 822 |
| 1582745 | 3001 | 3016 | 228 | 243 | TTCCCGCCGGTGCTGC  | 19 | K | 823 |
| 1582751 | 3013 | 3028 | 240 | 255 | CCAGGGCCGAGATTCC  | 27 | K | 824 |
| 1582757 | 3060 | 3075 | 287 | 302 | ACGGCGGTCCGCTTTC  | 22 | K | 825 |
| 1582763 | 3091 | 3106 | 318 | 333 | TCGGAGGAGCAGGGCG  | 29 | K | 826 |
| 1582769 | 3101 | 3116 | 328 | 343 | TCTCAAAAGGCTCGGAG | 21 | K | 827 |
| 1582775 | 3113 | 3128 | 340 | 355 | GAAAGCGATCCTTCTC  | 18 | K | 828 |
| 1582781 | 3119 | 3134 | 346 | 361 | TGCCTGGAAGCGATC   | 18 | K | 829 |
| 1582787 | 3130 | 3145 | 357 | 372 | CCGGGCGGCGATGCCT  | 22 | K | 830 |
| 1582793 | 3157 | 3172 | 384 | 399 | GAGGCCCGTCTCTCTG  | 23 | K | 831 |
| 1582799 | 3173 | 3188 | 400 | 415 | GAATCCTGGACTCCGG  | 21 | K | 832 |
| 1582805 | 3211 | 3226 | 438 | 453 | TCCCGGGTGCCTGGCC  | 58 | K | 833 |
| 1582811 | 3233 | 3248 | 460 | 475 | GCGCGGGCGCCCTGCC  | 20 | K | 834 |
| 1582817 | 3258 | 3273 | 485 | 500 | GCCGCGCTGCACAGGC  | 22 | K | 835 |
| 1582823 | 3292 | 3307 | 519 | 534 | GACCCACGAGGGAGCA  | 26 | K | 836 |
| 1582829 | 3298 | 3313 | 525 | 540 | GAAGGCGACCCACGAG  | 29 | K | 837 |
| 1582835 | 3311 | 3326 | 538 | 553 | CGCCGGTGTGGGCGAA  | 33 | K | 838 |
| 1582841 | 3317 | 3332 | 544 | 559 | CCCACGCGCCGGTGTG  | 17 | K | 839 |
| 1582848 | 3329 | 3344 | 556 | 571 | GAAGCCCCGTTCCTCA  | 38 | K | 840 |
| 1582856 | 3353 | 3368 | 580 | 595 | GCGCGCAGGGCACGTG  | 47 | K | 841 |
| 1582862 | 3360 | 3375 | 587 | 602 | GCCCCAGGCGCGCAGG  | 44 | K | 842 |
| 1582868 | 3377 | 3392 | 604 | 619 | AAGCCCCCTGTGGGAG  | 22 | K | 843 |
| 1582875 | 3383 | 3398 | 610 | 625 | TCACGAAAGCCCCCTG  | 16 | K | 844 |
| 1582881 | 3435 | 3450 | 662 | 677 | GCCGGCGCGGCCTGGC  | 29 | K | 845 |
| 1582888 | 3473 | 3488 | 700 | 715 | AATCCCCGCGCGCCGG  | 23 | K | 846 |
| 1582894 | 3479 | 3494 | 706 | 721 | AGGCGAAATCCCCGCG  | 23 | K | 847 |
| 1582900 | 3487 | 3502 | 714 | 729 | GGCGGCGTAGGCGAAA  | 27 | K | 848 |
| 1582906 | 3507 | 3522 | 734 | 749 | GCCCCGTCCGGAGGAG  | 23 | K | 849 |
| 1582912 | 3516 | 3531 | 743 | 758 | TGGGAGAGCGCCCCGT  | 26 | K | 850 |
| 1582918 | 3560 | 3575 | 787 | 802 | CCCGGCTTTTGCCCGG  | 81 | K | 851 |
| 1582921 | 2710 | 2725 | N/A | N/A | GGCCGGCGGGCTCCCG  | 48 | K | 852 |
| 1582925 | 3594 | 3609 | 821 | 836 | CCCGGCAGGCCGTGCG  | 21 | K | 853 |
| 1098912 | 4513 | 4528 | N/A | N/A | AGAGGAGGCGAGCCGC  | 29 | L | 301 |
| 1582460 | 4838 | 4853 | N/A | N/A | CAAATCTTCTATAGGA  | 50 | L | 854 |
| 1582466 | 4517 | 4532 | N/A | N/A | GCGCAGAGGAGGCGAG  | 95 | L | 855 |
| 1582469 | 2575 | 2590 | N/A | N/A | TCATGAATGGCGGTGA  | 45 | L | 856 |
| 1582472 | 2699 | 2714 | N/A | N/A | TCCCGTGCACCTCAGC  | 30 | L | 857 |
| 1582477 | 3626 | 3641 | 853 | 868 | GAGCGGGCCCAGGCTG  | 47 | L | 858 |
| 1582483 | 3635 | 3650 | 862 | 877 | GCCCCGCTTGAGCGGG  | 66 | L | 859 |
| 1582490 | 3653 | 3668 | 880 | 895 | GCACCCCTTGCCCTG   | 30 | L | 860 |

【 0 6 2 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 7】

|         |      |      |      |      |                  |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|------------------|-----|---|-----|
| 1582497 | 3678 | 3693 | 905  | 920  | CTCCCCTGGGACGTGG | 31  | L | 861 |
| 1582503 | 3687 | 3702 | 914  | 929  | CACCACGGACTCCCCT | 27  | L | 862 |
| 1582510 | 3724 | 3739 | 951  | 966  | CGCCGCCCCGGCGACC | 40  | L | 863 |
| 1582516 | 2726 | 2741 | N/A  | N/A  | GACGCGGGCAGAGAGA | 11  | L | 864 |
| 1582522 | 3786 | 3801 | 1013 | 1028 | GAGGCGGAGGCGTCCG | 40  | L | 865 |
| 1582528 | 3796 | 3811 | 1023 | 1038 | CTGCCGCGCGGAGGCG | 21  | L | 866 |
| 1582535 | 2735 | 2750 | N/A  | N/A  | TCACGGACGGACGCGG | 23  | L | 867 |
| 1582536 | 3838 | 3853 | 1065 | 1080 | CTGGAGCGCCTGGGAG | 52  | L | 868 |
| 1582542 | 3851 | 3866 | 1078 | 1093 | AGGGCGCCGGCTCCTG | 30  | L | 869 |
| 1582552 | 3895 | 3910 | 1122 | 1137 | CGCCAGGAGCTCATCC | 26  | L | 870 |
| 1582559 | 3906 | 3921 | 1133 | 1148 | AACTCCGGGCTCGCCA | 38  | L | 871 |
| 1582565 | 3912 | 3927 | 1139 | 1154 | TGCAGAAACTCCGGGC | 45  | L | 872 |
| 1582566 | 2743 | 2758 | N/A  | N/A  | CCGGAATTTACGGAC  | 20  | L | 873 |
| 1582573 | 3934 | 3949 | 1161 | 1176 | TTCTAGGAGAGGTTGC | 18  | L | 874 |
| 1582582 | 3967 | 3982 | 1194 | 1209 | TTCCGAGGCCTCCAGC | 39  | L | 875 |
| 1582589 | 4007 | 4022 | 1234 | 1249 | ATTCTTCTCGCTGAG  | 22  | L | 876 |
| 1582595 | 4016 | 4031 | 1243 | 1258 | GAGCCCGGTATTCTTC | 15  | L | 877 |
| 1582601 | 4033 | 4048 | 1260 | 1275 | CTAAAGCTCCTCCAGC | 31  | L | 878 |
| 1582607 | N/A  | N/A  | 1436 | 1451 | CCGCGGTGTGGAGTCT | 58  | L | 879 |
| 1582611 | 2783 | 2798 | 10   | 25   | TGTCCGAGGGTGTCCG | 17  | L | 880 |
| 1582625 | 4596 | 4611 | N/A  | N/A  | GCTTTTGACCGCCAGG | 17  | L | 881 |
| 1582631 | 4609 | 4624 | N/A  | N/A  | CAGACAGAGGTATGCT | 23  | L | 882 |
| 1582649 | 4679 | 4694 | 1544 | 1559 | CCAGCGAGCTCCCTTG | 23  | L | 883 |
| 1582655 | 4707 | 4722 | 1572 | 1587 | TTCACGGAAGAACAAG | 12  | L | 884 |
| 1582661 | 4714 | 4729 | 1579 | 1594 | CCAGAATTTACGGAA  | 15† | L | 885 |
| 1582666 | 2826 | 2841 | 53   | 68   | CTCCGTGCGCGTCCTC | 28  | L | 886 |
| 1582668 | 4744 | 4759 | 1609 | 1624 | CAGCGTCGGAAGGTGG | 10† | L | 887 |
| 1582674 | 4751 | 4766 | 1616 | 1631 | GCCTAGACAGCGTCGG | 2†  | L | 888 |
| 1582680 | 4767 | 4782 | 1632 | 1647 | ACTCTAATCCAGGTTT | 9†  | L | 889 |
| 1582686 | 4774 | 4789 | 1639 | 1654 | AGATGTAACTCTAATC | 13† | L | 890 |
| 1582692 | 4783 | 4798 | 1648 | 1663 | TCATCCAGGAGATGTA | 23† | L | 891 |
| 1582698 | 4791 | 4806 | 1656 | 1671 | TGAACTAATCATCCAG | 14† | L | 892 |
| 1582707 | 2838 | 2853 | 65   | 80   | GTCCAAACGAGTCTCC | 41  | L | 893 |
| 1582713 | 2873 | 2888 | 100  | 115  | CAAAGCAGGCTCGCAG | 43  | L | 894 |
| 1582719 | 2885 | 2900 | 112  | 127  | ACGGGTTCCGCTCAAA | 25  | L | 895 |
| 1582726 | 2931 | 2946 | 158  | 173  | ATGCCGATGGCCTGGG | 20  | L | 896 |
| 1582732 | 2938 | 2953 | 165  | 180  | CTCCGGAATGCCGATG | 20  | L | 897 |
| 1582738 | 2958 | 2973 | 185  | 200  | AACCAAATCTGGACCC | 26  | L | 898 |
| 1582744 | 3000 | 3015 | 227  | 242  | TCCCGCCGGTGCTGCC | 22  | L | 899 |
| 1582750 | 3012 | 3027 | 239  | 254  | CAGGGCCGAGATTCCC | 28  | L | 900 |

【 0 6 2 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 8】

|         |      |      |     |     |                  |     |   |     |
|---------|------|------|-----|-----|------------------|-----|---|-----|
| 1582756 | 3051 | 3066 | 278 | 293 | CGCTTTCGCCGGCCTT | 18  | L | 901 |
| 1582762 | 3088 | 3103 | 315 | 330 | GAGGAGCAGGGCGGTC | 76  | L | 902 |
| 1582768 | 3100 | 3115 | 327 | 342 | CTCAAAGGCTCGGAGG | 27  | L | 903 |
| 1582774 | 3112 | 3127 | 339 | 354 | AAAGCGATCCTTCTCA | 25  | L | 904 |
| 1582780 | 3118 | 3133 | 345 | 360 | GCCTGGAAAGCGATCC | 28  | L | 905 |
| 1582786 | 3128 | 3143 | 355 | 370 | GGGCGGCGATGCCTGG | 25  | L | 906 |
| 1582792 | 3135 | 3150 | 362 | 377 | TCCTCCCGGCGGCGCA | 78  | L | 907 |
| 1582798 | 3171 | 3186 | 398 | 413 | ATCCTGGACTCCGGGA | 46  | L | 908 |
| 1582804 | 3198 | 3213 | 425 | 440 | GCCCTTCGATTCTGAA | 24  | L | 909 |
| 1582810 | 3232 | 3247 | 459 | 474 | CGCGGGCGCCCTGCCA | 37  | L | 910 |
| 1582816 | 3257 | 3272 | 484 | 499 | CCGCGCTGCACAGGCC | 29  | L | 911 |
| 1582822 | 3291 | 3306 | 518 | 533 | ACCCACGAGGGAGCAG | 34  | L | 912 |
| 1582828 | 3297 | 3312 | 524 | 539 | AAGGCGACCCACGAGG | 16  | L | 913 |
| 1582834 | 3304 | 3319 | 531 | 546 | GTGGGCGAAGGCGACC | 78  | L | 914 |
| 1582840 | 3316 | 3331 | 543 | 558 | CCACGCGCCGGTGTGG | 55  | L | 915 |
| 1582847 | 3328 | 3343 | 555 | 570 | AAGCCCCGTCCCCAC  | 33  | L | 916 |
| 1582854 | 3352 | 3367 | 579 | 594 | CGCGCAGGGCACGTGG | 67  | L | 917 |
| 1582861 | 3359 | 3374 | 586 | 601 | CCCCAGGCGCGCAGGG | 54  | L | 918 |
| 1582867 | 3376 | 3391 | 603 | 618 | AGCCCCCTGTGGGAGA | 39  | L | 919 |
| 1582873 | 3382 | 3397 | 609 | 624 | CACGAAAGCCCCCTGT | 24  | L | 920 |
| 1582880 | 3434 | 3449 | 661 | 676 | CCGGCGCGGCCTGGCT | 51  | L | 921 |
| 1582886 | 3472 | 3487 | 699 | 714 | ATCCCCGCGCGCCGGG | 50  | L | 922 |
| 1582893 | 3478 | 3493 | 705 | 720 | GGCGAAATCCCCGCGC | 47  | L | 923 |
| 1582899 | 3486 | 3501 | 713 | 728 | GCGGCGTAGGCGAAAT | 28  | L | 924 |
| 1582905 | 3506 | 3521 | 733 | 748 | CCCCGTCCGAGGAGC  | 21  | L | 925 |
| 1582911 | 3514 | 3529 | 741 | 756 | GGAGAGCGCCCCGTCC | 23  | L | 926 |
| 1582917 | 3556 | 3571 | 783 | 798 | GCTTTTGCCCGGGTGC | 34  | L | 927 |
| 1582924 | 3593 | 3608 | 820 | 835 | CCGGCAGGCCGTCGCG | 61  | L | 928 |
| 1098912 | 4513 | 4528 | N/A | N/A | AGAGGAGGCGAGCCGC | 20  | M | 301 |
| 1582465 | 4516 | 4531 | N/A | N/A | CGCAGAGGAGGCGAGC | 43  | M | 929 |
| 1582468 | 2574 | 2589 | N/A | N/A | CATGAATGGCGGTGAG | 68  | M | 930 |
| 1582471 | 2690 | 2705 | N/A | N/A | CCTCAGCCGACTGTG  | 35  | M | 931 |
| 1582474 | 4837 | 4852 | N/A | N/A | AAATCTTCTATAGGAT | 55  | M | 932 |
| 1582476 | 3625 | 3640 | 852 | 867 | AGCGGGCCCAGGCTGT | 56  | M | 933 |
| 1582482 | 3634 | 3649 | 861 | 876 | CCCCGCTTGAGCGGGC | 120 | M | 934 |
| 1582488 | 3650 | 3665 | 877 | 892 | CCCCTTGCCCTGCGG  | 27  | M | 935 |
| 1582495 | 3660 | 3675 | 887 | 902 | GGCGCAAGCACCCCTT | 17  | M | 936 |
| 1582502 | 3686 | 3701 | 913 | 928 | ACCACGACTCCCCTG  | 16  | M | 937 |
| 1582509 | 3723 | 3738 | 950 | 965 | GCCGCCCGGCGACCT  | 25  | M | 938 |
| 1582515 | 2725 | 2740 | N/A | N/A | ACGCGGGCAGAGAGAG | 33  | M | 939 |

【 0 6 2 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 9】

|         |      |      |      |      |                  |     |   |     |
|---------|------|------|------|------|------------------|-----|---|-----|
| 1582521 | 3785 | 3800 | 1012 | 1027 | AGGCGGAGGCGTCCGG | 39  | M | 940 |
| 1582527 | 3795 | 3810 | 1022 | 1037 | TGCCGCGCGGAGGCGG | 20  | M | 941 |
| 1582533 | 3822 | 3837 | 1049 | 1064 | GGCGCCGGGATGCCTT | 45  | M | 942 |
| 1582534 | 2734 | 2749 | N/A  | N/A  | CACGGACGGACGCGGG | 33  | M | 943 |
| 1582541 | 3849 | 3864 | 1076 | 1091 | GGCGCCGGCTCCTGGA | 58  | M | 944 |
| 1582550 | 3883 | 3898 | 1110 | 1125 | ATCCAGCAGCAGGCCG | 20  | M | 945 |
| 1582557 | 2742 | 2757 | N/A  | N/A  | CGGAATTTACGGACG  | 13  | M | 946 |
| 1582558 | 3904 | 3919 | 1131 | 1146 | CTCCGGGCTCGCCAGG | 24  | M | 947 |
| 1582564 | 3911 | 3926 | 1138 | 1153 | GCAGAACTCCGGGCT  | 29  | M | 948 |
| 1582572 | 3933 | 3948 | 1160 | 1175 | TCTAGGAGAGGTTGCG | 27  | M | 949 |
| 1582581 | 3966 | 3981 | 1193 | 1208 | TCCGAGGCCTCCAGCT | 49  | M | 950 |
| 1582584 | 2749 | 2764 | N/A  | N/A  | CCCCGGCCGGAATTC  | 37  | M | 951 |
| 1582588 | 3985 | 4000 | 1212 | 1227 | TTCCAGCGAGGCGGCC | 26  | M | 952 |
| 1582594 | 4014 | 4029 | 1241 | 1256 | GCCCGGTATTCTTCCT | 21  | M | 953 |
| 1582600 | 4032 | 4047 | 1259 | 1274 | TAAAGCTCCTCCAGCA | 24  | M | 954 |
| 1582622 | 2811 | 2826 | 38   | 53   | CGTCCCCGGGCTCCG  | 48  | M | 955 |
| 1582630 | 4608 | 4623 | N/A  | N/A  | AGACAGAGGTATGCTT | 21  | M | 956 |
| 1582648 | 4678 | 4693 | 1543 | 1558 | CAGCGAGCTCCCTTGC | 25  | M | 957 |
| 1582654 | 4705 | 4720 | 1570 | 1585 | CACGGAAGAACAAGGG | 11  | M | 958 |
| 1582660 | 4713 | 4728 | 1578 | 1593 | CAGAATTTACGGAAG  | 16  | M | 959 |
| 1582667 | 4743 | 4758 | 1608 | 1623 | AGCGTCGGAAGGTGGG | 9†  | M | 960 |
| 1582673 | 4750 | 4765 | 1615 | 1630 | CCTAGACAGCGTCGGA | 17† | M | 961 |
| 1582679 | 4766 | 4781 | 1631 | 1646 | CTCTAATCCAGGTTTG | 9   | M | 962 |
| 1582685 | 4773 | 4788 | 1638 | 1653 | GATGTAATCTAATCC  | 21† | M | 963 |
| 1582691 | 4782 | 4797 | 1647 | 1662 | CATCCAGGAGATGTAA | 25  | M | 964 |
| 1582697 | 4790 | 4805 | 1655 | 1670 | GAATAATCATCCAGG  | 12† | M | 965 |
| 1582706 | 2837 | 2852 | 64   | 79   | TCCAAACGAGTCTCCG | 25  | M | 966 |
| 1582712 | 2872 | 2887 | 99   | 114  | AAAGCAGGCTCGCAGG | 32  | M | 967 |
| 1582718 | 2881 | 2896 | 108  | 123  | GTTCCGCTCAAAGCAG | 26  | M | 968 |
| 1582725 | 2929 | 2944 | 156  | 171  | GCCGATGGCCTGGGCC | 34  | M | 969 |
| 1582731 | 2937 | 2952 | 164  | 179  | TCCGGAATGCCGATGG | 31  | M | 970 |
| 1582737 | 2957 | 2972 | 184  | 199  | ACCAAATCTGGACCCT | 23  | M | 971 |
| 1582743 | 2999 | 3014 | 226  | 241  | CCCGCCGGTGCTGCCT | 27  | M | 972 |
| 1582749 | 3011 | 3026 | 238  | 253  | AGGGCCGAGATTCCCG | 52  | M | 973 |
| 1582755 | 3049 | 3064 | 276  | 291  | CTTTCGCCGGCCTTCT | 31  | M | 974 |
| 1582761 | 3085 | 3100 | 312  | 327  | GAGCAGGGCGGTCTGG | 35  | M | 975 |
| 1582767 | 3099 | 3114 | 326  | 341  | TCAAAGGCTCGGAGGA | 18  | M | 976 |
| 1582773 | 3111 | 3126 | 338  | 353  | AAGCGATCCTTCTCAA | 33  | M | 977 |
| 1582779 | 3117 | 3132 | 344  | 359  | CCTGGAAAGCGATCCT | 14  | M | 978 |
| 1582785 | 3127 | 3142 | 354  | 369  | GGCGGCGATGCCTGGA | 17  | M | 979 |

【 0 6 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 0】

|         |      |      |      |      |                  |    |   |      |
|---------|------|------|------|------|------------------|----|---|------|
| 1582791 | 3134 | 3149 | 361  | 376  | CCTCCCGGGCGGCGAT | 44 | M | 980  |
| 1582797 | 3165 | 3180 | 392  | 407  | GACTCCGGGAGGCCCG | 36 | M | 981  |
| 1582803 | 3196 | 3211 | 423  | 438  | CCTTCGATTCTGAAAC | 27 | M | 982  |
| 1582809 | 3230 | 3245 | 457  | 472  | CGGGCGCCCTGCCACC | 39 | M | 983  |
| 1582815 | 3252 | 3267 | 479  | 494  | CTGCACAGGCCGCTG  | 49 | M | 984  |
| 1582821 | 3290 | 3305 | 517  | 532  | CCCACGAGGGAGCAGG | 38 | M | 985  |
| 1582827 | 3296 | 3311 | 523  | 538  | AGGCGACCCACGAGGG | 30 | M | 986  |
| 1582833 | 3302 | 3317 | 529  | 544  | GGGCGAAGGCGACCCA | 41 | M | 987  |
| 1582839 | 3315 | 3330 | 542  | 557  | CACGCGCCGGTGTGGG | 23 | M | 988  |
| 1582846 | 3327 | 3342 | 554  | 569  | AGCCCCGTTCACACG  | 40 | M | 989  |
| 1582852 | 3335 | 3350 | 562  | 577  | GTGCGGGAAGCCCCGT | 35 | M | 990  |
| 1582860 | 3357 | 3372 | 584  | 599  | CCAGGCGCGCAGGGCA | 27 | M | 991  |
| 1582866 | 3373 | 3388 | 600  | 615  | CCCCTGTGGGAGAGCC | 21 | M | 992  |
| 1582872 | 3381 | 3396 | 608  | 623  | ACGAAAGCCCCCTGTG | 29 | M | 993  |
| 1582879 | 3402 | 3417 | 629  | 644  | GCGGCCCTCGCTGCCT | 43 | M | 994  |
| 1582885 | 3455 | 3470 | 682  | 697  | CAGGTTGGGAGATCCC | 22 | M | 995  |
| 1582892 | 3477 | 3492 | 704  | 719  | GCGAAATCCCCGCGCG | 41 | M | 996  |
| 1582898 | 3485 | 3500 | 712  | 727  | CGGCGTAGGCGAAATC | 25 | M | 997  |
| 1582904 | 3504 | 3519 | 731  | 746  | CCGTCCGGAGGAGCCG | 37 | M | 998  |
| 1582910 | 3511 | 3526 | 738  | 753  | GAGCGCCCCGTCCGGA | 84 | M | 999  |
| 1582916 | 3552 | 3567 | 779  | 794  | TTGCCCCGGTGCGGAG | 76 | M | 1000 |
| 1582923 | 3589 | 3604 | 816  | 831  | CAGGCCGTCGCGCTGC | 32 | M | 1001 |
| 1098912 | 4513 | 4528 | N/A  | N/A  | AGAGGAGGCGAGCCGC | 18 | N | 301  |
| 1582464 | 4514 | 4529 | N/A  | N/A  | CAGAGGAGGCGAGCCG | 39 | N | 1002 |
| 1582467 | 2573 | 2588 | N/A  | N/A  | ATGAATGGCGGTGAGC | 56 | N | 1003 |
| 1582470 | 2687 | 2702 | N/A  | N/A  | CAGCCGACTGTGCAC  | 21 | N | 1004 |
| 1582473 | 4827 | 4842 | 1692 | 1707 | TAGGATCCACAGGGAG | 32 | N | 1005 |
| 1582475 | 3623 | 3638 | 850  | 865  | CGGGCCAGGCTGTGC  | 90 | N | 1006 |
| 1582481 | 3633 | 3648 | 860  | 875  | CCCGCTTGAGCGGGCC | 38 | N | 1007 |
| 1582487 | 3640 | 3655 | 867  | 882  | CTGCGGCCCCGCTTGA | 42 | N | 1008 |
| 1582494 | 3659 | 3674 | 886  | 901  | GCGCAAGCACCCCTTG | 31 | N | 1009 |
| 1582501 | 3685 | 3700 | 912  | 927  | CCACGGAATCCCCTGG | 37 | N | 1010 |
| 1582507 | 3722 | 3737 | 949  | 964  | CCGCCCCGCGACCTG  | 36 | N | 1011 |
| 1582508 | 2724 | 2739 | N/A  | N/A  | CGCGGGCAGAGAGAGG | 76 | N | 1012 |
| 1582514 | 3729 | 3744 | 956  | 971  | TCCACGCGCCCCCGG  | 24 | N | 1013 |
| 1582520 | 2730 | 2745 | N/A  | N/A  | GACGGACGCGGGCAGA | 42 | N | 1014 |
| 1582526 | 3794 | 3809 | 1021 | 1036 | GCCGCGCGGAGGCGGA | 38 | N | 1015 |
| 1582532 | 3821 | 3836 | 1048 | 1063 | GCGCCGGGATGCCTTG | 61 | N | 1016 |
| 1582540 | 3848 | 3863 | 1075 | 1090 | GCGCCGGCTCCTGGAG | 73 | N | 1017 |
| 1582547 | 3858 | 3873 | 1085 | 1100 | GCAGACCAGGGCGCCG | 43 | N | 1018 |

【0 6 3 0】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 1】

|         |      |      |      |      |                   |     |   |      |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|------|
| 1582551 | 2741 | 2756 | N/A  | N/A  | GGAATTTACGGACGG   | 31  | N | 1019 |
| 1582556 | 3902 | 3917 | 1129 | 1144 | CCGGGCTCGCCAGGAG  | 39  | N | 1020 |
| 1582563 | 3910 | 3925 | 1137 | 1152 | CAGAAACTCCGGGCTC  | 29  | N | 1021 |
| 1582571 | 3932 | 3947 | 1159 | 1174 | CTAGGAGAGGTTGCGC  | 80  | N | 1022 |
| 1582577 | 3940 | 3955 | 1167 | 1182 | CTCCGTTTCTAGGAGA  | 60  | N | 1023 |
| 1582580 | 2748 | 2763 | N/A  | N/A  | CCCGGCCGGAATTTCA  | 38  | N | 1024 |
| 1582587 | 3983 | 3998 | 1210 | 1225 | CCAGCGAGGCGGCCCTC | 32  | N | 1025 |
| 1582593 | 4013 | 4028 | 1240 | 1255 | CCCGGTATTCTTCCTC  | 19  | N | 1026 |
| 1582599 | 4022 | 4037 | 1249 | 1264 | CCAGCAGAGCCCGGTA  | 31  | N | 1027 |
| 1582618 | 2810 | 2825 | 37   | 52   | GTCCCCGGGCTTCCGC  | 27  | N | 1028 |
| 1582629 | 4605 | 4620 | N/A  | N/A  | CAGAGGTATGCTTTTG  | 28  | N | 1029 |
| 1582635 | 4623 | 4638 | N/A  | N/A  | GAAGCGGGCAAAGACA  | 33  | N | 1030 |
| 1582647 | 4677 | 4692 | 1542 | 1557 | AGCGAGCTCCCTTGCA  | 37  | N | 1031 |
| 1582653 | 4704 | 4719 | 1569 | 1584 | ACGGAAGAACAAGGCG  | 33  | N | 1032 |
| 1582659 | 4712 | 4727 | 1577 | 1592 | AGAATTTACGGAAGA   | 19  | N | 1033 |
| 1582665 | 4723 | 4738 | 1588 | 1603 | GACATTCAGCCAGAAT  | 15† | N | 1034 |
| 1582672 | 4749 | 4764 | 1614 | 1629 | CTAGACAGCGTCGGAA  | 9†  | N | 1035 |
| 1582678 | 4765 | 4780 | 1630 | 1645 | TCTAATCCAGGTTTGC  | 10† | N | 1036 |
| 1582684 | 4772 | 4787 | 1637 | 1652 | ATGTAACCTAATCCA   | 12† | N | 1037 |
| 1582690 | 4781 | 4796 | 1646 | 1661 | ATCCAGGAGATGTAAC  | 11† | N | 1038 |
| 1582696 | 4789 | 4804 | 1654 | 1669 | AACTAATCATCCAGGA  | 18† | N | 1039 |
| 1582705 | 2836 | 2851 | 63   | 78   | CCAAACGAGTCTCCGT  | 14  | N | 1040 |
| 1582711 | 2871 | 2886 | 98   | 113  | AAGCAGGCTCGCAGGG  | 71  | N | 1041 |
| 1582717 | 2880 | 2895 | 107  | 122  | TTCCGCTCAAAGCAGG  | 25  | N | 1042 |
| 1582723 | 2917 | 2932 | 144  | 159  | GGCCAGCCGTCTCTG   | 51  | N | 1043 |
| 1582730 | 2936 | 2951 | 163  | 178  | CCGGAATGCCGATGGC  | 49  | N | 1044 |
| 1582736 | 2956 | 2971 | 183  | 198  | CCAAATCTGGACCCTG  | 18  | N | 1045 |
| 1582742 | 2986 | 3001 | 213  | 228  | CCTCAGCTGGCGTGAC  | 21  | N | 1046 |
| 1582748 | 3010 | 3025 | 237  | 252  | GGGCCGAGATTCCCGC  | 32  | N | 1047 |
| 1582754 | 3047 | 3062 | 274  | 289  | TTCGCCGGCCTTCTGG  | 27  | N | 1048 |
| 1582760 | 3069 | 3084 | 296  | 311  | GATCCGGTGACGGCGG  | 33  | N | 1049 |
| 1582766 | 3098 | 3113 | 325  | 340  | CAAAGGCTCGGAGGAG  | 31  | N | 1050 |
| 1582772 | 3110 | 3125 | 337  | 352  | AGCGATCCTTCTCAA   | 19  | N | 1051 |
| 1582778 | 3116 | 3131 | 343  | 358  | CTGGAAGCGATCCCT   | 12  | N | 1052 |
| 1582784 | 3126 | 3141 | 353  | 368  | GCGGCGATGCCTGGAA  | 32  | N | 1053 |
| 1582790 | 3133 | 3148 | 360  | 375  | CTCCGGGCGGCGATG   | 41  | N | 1054 |
| 1582796 | 3163 | 3178 | 390  | 405  | CTCCGGGAGGCCCGTC  | 19  | N | 1055 |
| 1582802 | 3195 | 3210 | 422  | 437  | CTTCGATTCTGAAACC  | 22  | N | 1056 |
| 1582808 | 3229 | 3244 | 456  | 471  | GGGCGCCCTGCCACCC  | 51  | N | 1057 |
| 1582814 | 3236 | 3251 | 463  | 478  | CCTGCGCGGGCGCCCT  | 38  | N | 1058 |

【0 6 3 1】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 2】

|         |      |      |      |      |                   |     |   |      |
|---------|------|------|------|------|-------------------|-----|---|------|
| 1582820 | 3281 | 3296 | 508  | 523  | GAGCAGGGTGACCCCC  | 25  | N | 1059 |
| 1582826 | 3295 | 3310 | 522  | 537  | GGCGACCCACGAGGGA  | 50  | N | 1060 |
| 1582832 | 3301 | 3316 | 528  | 543  | GGCGAAGGCGACCCAC  | 22  | N | 1061 |
| 1582838 | 3314 | 3329 | 541  | 556  | ACGCGCCGGTGTGGGC  | 19  | N | 1062 |
| 1582845 | 3326 | 3341 | 553  | 568  | GCCCCGTTCACACGC   | 22  | N | 1063 |
| 1582851 | 3334 | 3349 | 561  | 576  | TGCGGGAAGCCCCGTT  | 31  | N | 1064 |
| 1582859 | 3356 | 3371 | 583  | 598  | CAGGCGCGCAGGGCAC  | 29  | N | 1065 |
| 1582865 | 3363 | 3378 | 590  | 605  | AGAGCCCCAGGCGCGC  | 36  | N | 1066 |
| 1582871 | 3380 | 3395 | 607  | 622  | CGAAAGCCCCCTGTGG  | 34  | N | 1067 |
| 1582878 | 3386 | 3401 | 613  | 628  | GGCTCACGAAAGCCCC  | 33  | N | 1068 |
| 1582884 | 3450 | 3465 | 677  | 692  | TGGGAGATCCCCTCTG  | 31  | N | 1069 |
| 1582891 | 3476 | 3491 | 703  | 718  | CGAAATCCCCGCGCGC  | 31  | N | 1070 |
| 1582897 | 3484 | 3499 | 711  | 726  | GGCGTAGGCGAAATCC  | 17  | N | 1071 |
| 1582903 | 3503 | 3518 | 730  | 745  | CGTCCGGAGGAGCCGG  | 30  | N | 1072 |
| 1582909 | 3510 | 3525 | 737  | 752  | AGCGCCCCGTCCGGAG  | 50  | N | 1073 |
| 1582915 | 3551 | 3566 | 778  | 793  | TGCCCCGGGTGCGGAGG | 83  | N | 1074 |
| 1582922 | 3587 | 3602 | 814  | 829  | GGCCGTGCGCTGCGG   | 51  | N | 1075 |
| 1604077 | 3917 | 3932 | 1144 | 1159 | CCTGCTGCAGAACTC   | 24  | O | 1076 |
| 1604078 | 3926 | 3941 | 1153 | 1168 | GAGGTTGCGCCTGCTG  | 12  | O | 1077 |
| 1604079 | 3927 | 3942 | 1154 | 1169 | AGAGGTTGCGCCTGCT  | 9   | O | 1078 |
| 1604080 | 4010 | 4025 | 1237 | 1252 | GGTATTCTTCCTCGCT  | 4   | O | 1079 |
| 1604081 | N/A  | N/A  | 1433 | 1448 | CGGTGTGGAGTCTCTC  | 30  | O | 1080 |
| 1604082 | N/A  | N/A  | 1437 | 1452 | TCCGCGGTGTGGAGTC  | 10  | O | 1081 |
| 1604083 | N/A  | N/A  | 1441 | 1456 | GTTCTCCGCGGTGTGG  | 15  | O | 1082 |
| 1604084 | N/A  | N/A  | 1442 | 1457 | AGTTCTCCGCGGTGTG  | 11  | O | 1083 |
| 1604085 | N/A  | N/A  | 1443 | 1458 | CAGTTCTCCGCGGTGT  | 11  | O | 1084 |
| 1604086 | N/A  | N/A  | 1444 | 1459 | GCAGTTCTCCGCGGTG  | 7   | O | 1085 |
| 1604087 | N/A  | N/A  | 1445 | 1460 | GGCAGTTCTCCGCGGT  | 11  | O | 1086 |
| 1604088 | N/A  | N/A  | 1447 | 1462 | ATGGCAGTTCTCCGCG  | 6   | O | 1087 |
| 1604089 | 2785 | 2800 | 12   | 27   | GCTGTCCGAGGGTGTC  | 17  | O | 1088 |
| 1604090 | 2788 | 2803 | 15   | 30   | GGTGCTGTCCGAGGGT  | 25  | O | 1089 |
| 1604091 | 2791 | 2806 | 18   | 33   | GAGGGTGCTGTCCGAG  | 29  | O | 1090 |
| 1604092 | 2792 | 2807 | 19   | 34   | GGAGGGTGCTGTCCGA  | 50  | O | 1091 |
| 1604093 | 4532 | 4547 | N/A  | N/A  | GACGGTGGCGCGGGGG  | 61  | O | 1092 |
| 1604094 | 4559 | 4574 | N/A  | N/A  | AGGCTGCAGGGGCCCG  | 27  | O | 1093 |
| 1604096 | 4599 | 4614 | N/A  | N/A  | TATGCTTTTGACCGCC  | 7   | O | 1094 |
| 1604097 | 4601 | 4616 | N/A  | N/A  | GGTATGCTTTTGACCG  | 30  | O | 1095 |
| 1604098 | 4624 | 4639 | N/A  | N/A  | GGAAGCGGGCAAAGAC  | 142 | O | 1096 |
| 1604106 | 4644 | 4659 | N/A  | N/A  | ACTGCGCGCAGGTCTA  | 22  | O | 1097 |
| 1604107 | 4645 | 4660 | 1510 | 1525 | CACTGCGCGCAGGTCT  | 6   | O | 1098 |

【 0 6 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 3】

|         |      |      |      |      |                  |       |   |      |
|---------|------|------|------|------|------------------|-------|---|------|
| 1604108 | 4654 | 4669 | 1519 | 1534 | CGGGGTGCGCACTGCG | 36    | O | 1099 |
| 1604109 | 4655 | 4670 | 1520 | 1535 | CCGGGGTGCGCACTGC | 24    | O | 1100 |
| 1604110 | 4656 | 4671 | 1521 | 1536 | GCCGGGGTGCGCACTG | 70    | O | 1101 |
| 1604111 | 4662 | 4677 | 1527 | 1542 | ACGTCAGCCGGGGTGC | 52    | O | 1102 |
| 1604112 | 4663 | 4678 | 1528 | 1543 | CACGTCAGCCGGGGTG | 21    | O | 1103 |
| 1604113 | 4664 | 4679 | 1529 | 1544 | GCACGTCAGCCGGGGT | 49    | O | 1104 |
| 1604114 | 4667 | 4682 | 1532 | 1547 | CTTGACGTCAGCCGG  | 11    | O | 1105 |
| 1604115 | 4668 | 4683 | 1533 | 1548 | CCTTGACGTCAGCCG  | 4     | O | 1106 |
| 1604116 | 4669 | 4684 | 1534 | 1549 | CCCTTGACGTCAGCC  | 8     | O | 1107 |
| 1604117 | 4670 | 4685 | 1535 | 1550 | TCCCTTGACGTCAGC  | 12    | O | 1108 |
| 1604118 | 4672 | 4687 | 1537 | 1552 | GCTCCCTTGACGTC   | 12    | O | 1109 |
| 1604119 | 4674 | 4689 | 1539 | 1554 | GAGCTCCCTTGACGT  | 15    | O | 1110 |
| 1604120 | 4675 | 4690 | 1540 | 1555 | CGAGCTCCCTTGACG  | 23    | O | 1111 |
| 1604121 | 4676 | 4691 | 1541 | 1556 | GCGAGCTCCCTTGAC  | 10    | O | 1112 |
| 1604122 | 4685 | 4700 | 1550 | 1565 | GAGAGGCCAGCGAGCT | 14†   | O | 1113 |
| 1604123 | 4687 | 4702 | 1552 | 1567 | CAGAGAGGCCAGCGAG | 20†   | O | 1114 |
| 1604124 | 4724 | 4739 | 1589 | 1604 | AGACATTGAGCCAGAA | N.D.† | O | 1115 |
| 1604125 | 4727 | 4742 | 1592 | 1607 | GGGAGACATTGAGCCA | 3†    | O | 1116 |
| 1604126 | 4728 | 4743 | 1593 | 1608 | GGGGAGACATTGAGCC | 22†   | O | 1117 |
| 1604127 | 2825 | 2840 | 52   | 67   | TCCGTCGCCGTCCTCG | 7     | O | 1118 |
| 1604128 | 4741 | 4756 | 1606 | 1621 | CGTCGGAAGGTGGGGG | 15†   | O | 1119 |
| 1604129 | 4742 | 4757 | 1607 | 1622 | GCGTCGGAAGGTGGGG | 11†   | O | 1120 |
| 1604130 | 4746 | 4761 | 1611 | 1626 | GACAGCGTCGGAAGGT | N.D.† | O | 1121 |
| 1604131 | 4756 | 4771 | 1621 | 1636 | GGTTTGCTAGACAGC  | 23†   | O | 1122 |
| 1604132 | 4759 | 4774 | 1624 | 1639 | CCAGGTTTGCTAGAC  | 9†    | O | 1123 |
| 1604133 | 4760 | 4775 | 1625 | 1640 | TCCAGGTTTGCTAGA  | N.D.† | O | 1124 |
| 1604134 | 4800 | 4815 | 1665 | 1680 | ATATATCTCTGAACTA | 27    | O | 1125 |
| 1604135 | 4801 | 4816 | 1666 | 1681 | AATATATCTCTGAACT | 19    | O | 1126 |
| 1604136 | 4813 | 4828 | 1678 | 1693 | AGGGGGCATTTTAATA | 87    | O | 1127 |
| 1604137 | 4814 | 4829 | 1679 | 1694 | GAGGGGGCATTTTAAT | 131   | O | 1128 |
| 1604138 | 2867 | 2882 | 94   | 109  | AGGCTCGCAGGGCCTC | 47    | O | 1129 |
| 1604139 | 2882 | 2897 | 109  | 124  | GGTCCGCTCAAAGCA  | 8     | O | 1130 |
| 1604140 | 2969 | 2984 | 196  | 211  | TCTCATTCTGAAACCA | 7     | O | 1131 |
| 1604141 | 2975 | 2990 | 202  | 217  | GTGACCTCTCATTCTG | 27    | O | 1132 |
| 1604142 | 2981 | 2996 | 208  | 223  | GCTGGCGTGACCTCTC | 5     | O | 1133 |
| 1604143 | 2993 | 3008 | 220  | 235  | GGTGCTGCCTCAGCTG | 4     | O | 1134 |
| 1604144 | 3103 | 3118 | 330  | 345  | CTTCTCAAAGGCTCGG | 23    | O | 1135 |
| 1604145 | 3105 | 3120 | 332  | 347  | TCCTTCTCAAAGGCTC | 7     | O | 1136 |
| 1604146 | 3137 | 3152 | 364  | 379  | GCTCCTCCCGGGCGGC | N.D.  | O | 1137 |
| 1604147 | 3145 | 3160 | 372  | 387  | TCTGGCCAGCTCCTCC | 11    | O | 1138 |

【0 6 3 3】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 4】

|         |      |      |     |     |                  |      |   |      |
|---------|------|------|-----|-----|------------------|------|---|------|
| 1604148 | 3151 | 3166 | 378 | 393 | CGTCTCTCTGGCCAGC | 8    | O | 1139 |
| 1604149 | 3152 | 3167 | 379 | 394 | CCGTCTCTCTGGCCAG | 11   | O | 1140 |
| 1604150 | 3174 | 3189 | 401 | 416 | TGAATCCTGGACTCCG | 8    | O | 1141 |
| 1604151 | 3180 | 3195 | 407 | 422 | CAGATCTGAATCCTGG | 18   | O | 1142 |
| 1604152 | 3181 | 3196 | 408 | 423 | CCAGATCTGAATCCTG | 10   | O | 1143 |
| 1604153 | 3193 | 3208 | 420 | 435 | TCGATTCTGAAACCAG | 7    | O | 1144 |
| 1604154 | 3206 | 3221 | 433 | 448 | GGTGCCTGGCCCTTCG | N.D. | O | 1145 |

10

【0 6 3 4】

【表 1 3】

表 13

分化した 54-2 細胞における均一ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する 3-10-3 cEt 修飾オリゴヌクレオチドによる DUX4 RNA の低減

| 化合物<br>番号 | 配列<br>番号 3<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 3<br>終結<br>部位 | 配列(5'から 3')      | DUX4<br>(%<br>UTC) | 分析<br>ID | 配列<br>番号 |
|-----------|------------------------|------------------------|------------------|--------------------|----------|----------|
| 1582604   | 7320                   | 7335                   | AAAGAGAGGCCACGGC | 25                 | I        | 1146     |
| 1582621   | 7823                   | 7838                   | TGACCGCCAGGAGCTC | 27                 | I        | 1147     |
| 1582603   | 7319                   | 7334                   | AAGAGAGGCCACGGCC | 25                 | J        | 1148     |
| 1582620   | 7821                   | 7836                   | ACCGCCAGGAGCTCCG | 32                 | J        | 1149     |
| 1582602   | 7310                   | 7325                   | CACGGCCCTGCCCCGA | 48                 | K        | 1150     |
| 1582619   | 7820                   | 7835                   | CCGCCAGGAGCTCCGC | 12                 | K        | 1151     |
| 1582606   | 7322                   | 7337                   | CGAAAGAGAGGCCACG | 19                 | M        | 1152     |
| 1582624   | 7827                   | 7842                   | CTTTTGACCGCCAGGA | 20                 | M        | 1153     |
| 1582605   | 7321                   | 7336                   | GAAAGAGAGGCCACGG | 35                 | N        | 1154     |
| 1582623   | 7825                   | 7840                   | TTGACCGCCAGGAGC  | 27                 | N        | 1155     |
| 1604095   | 7824                   | 7839                   | TTGACCGCCAGGAGCT | 6                  | O        | 1156     |

20

30

【0 6 3 5】

以下の表の化合物は、「化合物上のミスマッチの位置（5'から 3'）」と標識された列に示される位置にある配列番号 1（本明細書の上記）に対する単一のミスマッチを有する。さらに、ミスマッチの核酸塩基は、「配列（5'から 3'）」と標識された列に太字及び下線付きで印がつけられている。

【0 6 3 6】

40

50

## 【表 1 4】

表 14

分化した 54-2 細胞における均一ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する 3-10-3 cEt 修飾オリゴヌクレオチドによる DUX4 RNA の低減

| 化合物<br>番号 | 化合物上の<br>ミスマッチ<br>の位置<br>(5'から 3') | 配列<br>番号 1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 1<br>終結<br>部位 | 配列(5'から 3')      | DUX4<br>(%<br>UTC) | 分析<br>ID | 配列<br>番号 |
|-----------|------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------|--------------------|----------|----------|
| 1582640   | 10                                 | 4636                   | 4651                   | CAGGTCTAGTCAGGAA | 31                 | I        | 1157     |
| 1582639   | 7                                  | 4633                   | 4648                   | GTCTAGTCAGGAAGCG | 35                 | J        | 1158     |
| 1582638   | 5                                  | 4631                   | 4646                   | CTAGTCAGGAAGCGGG | 65                 | K        | 1159     |
| 1582637   | 4                                  | 4630                   | 4645                   | TAGTCAGGAAGCGGGC | 38                 | L        | 1160     |
| 1582643   | 16                                 | 4642                   | 4657                   | TGCGCGCAGGTCTAGT | 77                 | L        | 1161     |
| 1582636   | 3                                  | 4629                   | 4644                   | AGTCAGGAAGCGGGCA | 54                 | M        | 1162     |
| 1582642   | 14                                 | 4640                   | 4655                   | CGCGCAGGTCTAGTCA | 81                 | M        | 1163     |
| 1582641   | 13                                 | 4639                   | 4654                   | GCGCAGGTCTAGTCAG | 46                 | N        | 1164     |
| 1604099   | 2                                  | 4628                   | 4643                   | GTCAGGAAGCGGGCAA | 25                 | O        | 1165     |
| 1604100   | 6                                  | 4632                   | 4647                   | TCTAGTCAGGAAGCGG | 9                  | O        | 1166     |
| 1604101   | 8                                  | 4634                   | 4649                   | GGTCTAGTCAGGAAGC | 32                 | O        | 1167     |
| 1604102   | 9                                  | 4635                   | 4650                   | AGGTCTAGTCAGGAAG | 26                 | O        | 1168     |
| 1604103   | 11                                 | 4637                   | 4652                   | GCAGGTCTAGTCAGGA | 21                 | O        | 1169     |
| 1604104   | 12                                 | 4638                   | 4653                   | CGCAGGTCTAGTCAGG | 8                  | O        | 1170     |
| 1604105   | 15                                 | 4641                   | 4656                   | GCGCGCAGGTCTAGTC | 58                 | O        | 1171     |

## 【0 6 3 7】

実施例 8：54-2 細胞におけるヒト DUX4 の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存阻害

上記の実施例から選択された修飾オリゴヌクレオチドを、54-2 細胞（本明細書の上記）において様々な用量で試験した。1 ウェルあたり 20,000 細胞の密度でプレATINGした 54-2 細胞を分化させ（本明細書で上記した通り）、以下の表に指定する様々な濃度の修飾オリゴヌクレオチドで、cytofectin を使用して処理した。約 24 時間の処理期間の後、全 RNA を細胞から単離し、DUX4 RNA レベルを定量的リアルタイム RTPCR によって測定した。ヒト DUX4 プライマー・プローブセット RTS40199（本明細書の上記）を使用して、RNA レベルを上記の通りに測定した。DUX4 RNA レベルを、RIBOGREEN（登録商標）で測定した全 RNA 含有量に対して正規化した。DUX4 RNA の低減を、未処理の対照細胞における DUX4 RNA の量に対する DUX4 RNA パーセント（%UTC）として以下の表に示す。

## 【0 6 3 8】

各修飾オリゴヌクレオチドの半数最大阻害濃度（IC<sub>50</sub>）を、Excel のデータの対数／線形プロットに線形回帰を使用して計算し、これも以下の表に示す。以下の表における「N.D.」とは、その値が不定義であったものを指す。

## 【0 6 3 9】

10

20

30

40

50

## 【表 1 5】

表 15

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DMPK RNA (% UTC) |       |        |        | IC <sub>50</sub> (μM) |
|-----------|------------------|-------|--------|--------|-----------------------|
|           | 15 nM            | 44 nM | 133 nM | 400 nM |                       |
| 1582502   | 72               | 49    | 4      | 4      | 0.04                  |
| 1582516   | 104              | 27    | 4      | 2      | 0.05                  |
| 1582548   | 80               | 27    | 2      | 1      | 0.03                  |
| 1582554   | 132              | 40    | 7      | 2      | 0.07                  |
| 1582557   | 83               | 32    | 3      | 3      | 0.03                  |
| 1582561   | 88               | 39    | 5      | 2      | 0.04                  |
| 1582562   | 96               | 49    | 5      | 2      | 0.05                  |
| 1582568   | 82               | 37    | 5      | 3      | 0.04                  |
| 1582585   | 63               | 29    | 3      | 8      | 0.02                  |
| 1582590   | 102              | 99    | 17     | 5      | 0.09                  |
| 1582591   | 107              | 42    | 8      | 5      | 0.06                  |
| 1582595   | 86               | 47    | 7      | 1      | 0.04                  |
| 1582596   | 106              | 59    | 14     | 3      | 0.07                  |
| 1582598   | 89               | 40    | 5      | 3      | 0.04                  |
| 1582619   | 84               | 44    | 10     | 8      | 0.04                  |
| 1582654   | 56               | 9     | 3      | 1      | <0.02                 |

10

20

## 【0 6 4 0】

## 【表 1 6】

表 16

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DMPK RNA (% UTC) |       |        |        | IC <sub>50</sub> (μM) |
|-----------|------------------|-------|--------|--------|-----------------------|
|           | 15 nM            | 44 nM | 133 nM | 400 nM |                       |
| 1582728   | 75               | 46    | 11     | 2      | 0.04                  |
| 1582740   | 131              | 71    | 15     | 3      | 0.09                  |
| 1582746   | 84               | 42    | 8      | 7      | 0.04                  |
| 1582758   | 105              | 56    | 20     | 14     | 0.07                  |
| 1582770   | 86               | 56    | 9      | 4      | 0.05                  |
| 1582771   | 85               | 53    | 7      | 3      | 0.05                  |
| 1582778   | 82               | 51    | 14     | 3      | 0.05                  |
| 1582779   | 74               | 37    | 6      | 2      | 0.03                  |
| 1582785   | 26               | 27    | 11     | 13     | <0.02                 |
| 1582800   | 99               | 36    | 10     | 3      | 0.05                  |
| 1582801   | 84               | 45    | 5      | 4      | 0.04                  |
| 1582828   | 92               | 53    | 23     | 8      | 0.06                  |
| 1582875   | 84               | 56    | 16     | 2      | 0.05                  |
| 1582876   | 92               | 83    | 18     | 4      | 0.08                  |
| 1582877   | 79               | 47    | 11     | 1      | 0.04                  |

30

40

## 【0 6 4 1】

50

## 【表 1 7】

表 17

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DMPK RNA (% UTC) |       |        |        | IC <sub>50</sub> (μM) |
|-----------|------------------|-------|--------|--------|-----------------------|
|           | 6 nM             | 25 nM | 100 nM | 400 nM |                       |
| 1604078   | 28               | 15    | 4      | 10     | <0.01                 |
| 1604079   | 36               | 20    | 7      | 4      | <0.01                 |
| 1604080   | 34               | 10    | 5      | 16     | <0.01                 |
| 1604082   | 47               | 17    | 10     | 7      | <0.01                 |
| 1604084   | 29               | 7     | 8      | 14     | <0.01                 |
| 1604085   | 23               | 5     | 6      | 8      | <0.01                 |
| 1604086   | 13               | 2     | 3      | 4      | <0.01                 |
| 1604087   | 22               | 4     | 5      | 11     | <0.01                 |
| 1604088   | 28               | 29    | 6      | 9      | <0.01                 |
| 1604095   | 108              | 49    | 20     | 26     | 0.05                  |
| 1604096   | 57               | 27    | 8      | 17     | 0.01                  |
| 1604100   | 70               | 26    | 28     | 14     | 0.01                  |
| 1604104   | 57               | 23    | 25     | 27     | <0.01                 |
| 1604107   | 45               | 17    | 2      | 1      | <0.01                 |
| 1604114   | 28               | 19    | 12     | 25     | <0.01                 |

10

20

## 【 0 6 4 2】

## 【表 1 8】

表 18

54-2 細胞におけるヒト DUX4 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

| 化合物<br>番号 | DMPK RNA (% UTC) |       |        |        | IC <sub>50</sub> (μM) |
|-----------|------------------|-------|--------|--------|-----------------------|
|           | 6 nM             | 25 nM | 100 nM | 400 nM |                       |
| 1604115   | 38               | 6     | 2      | 15     | <0.01                 |
| 1604116   | 35               | 10    | 5      | 11     | <0.01                 |
| 1604121   | 65               | 16    | 4      | 80     | <0.01                 |
| 1604127   | 19               | 6     | 0      | 28     | >0.4                  |
| 1604139   | 18               | 3     | 8      | 8      | <0.01                 |
| 1604140   | 48               | 6     | 1      | 2      | <0.01                 |
| 1604142   | 5                | 2     | 3      | 13     | >0.4                  |
| 1604143   | 12               | 9     | 1      | 4      | <0.01                 |
| 1604145   | 38               | 25    | 2      | 3      | <0.01                 |
| 1604147   | 27               | 3     | 15     | 11     | <0.01                 |
| 1604148   | 9                | 12    | 3      | 10     | <0.01                 |
| 1604149   | 18               | 3     | 5      | 6      | <0.01                 |
| 1604150   | 53               | 15    | 8      | 33     | <0.01                 |
| 1604152   | 19               | 2     | 4      | 2      | <0.01                 |
| 1604153   | 2                | 1     | 3      | 2      | >0.4                  |

30

40

## 【 0 6 4 3】

50



このセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドに100%相補的である(5'から3'へ)。

【0649】

【表20】

表 20

ヒトDUX4を標的とするRNAi化合物の設計

| 二重鎖化合物番号 | アンチセンス鎖化合物番号 | アンチセンス鎖配列(5'から3')                     | 配列番号 | 配列番号1<br>アンチセンス開始部位 | 配列番号1<br>アンチセンス終結部位 | 配列番号2<br>アンチセンス開始部位 | 配列番号2<br>アンチセンス終結部位 | センス鎖化合物番号 | センス鎖配列(5'から3')                        | 配列番号 |
|----------|--------------|---------------------------------------|------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------|---------------------------------------|------|
| 1586340  | 1586145      | AAAGCGAU<br>CCUUCUCA<br>AAGGCUCG<br>G | 1172 | 3103                | 3127                | 330                 | 354                 | 1586338   | CCGAGCC<br>UUUGAGA<br>AGGAUCG<br>CUUU | 1173 |

10

【0650】

実施例10：ヒトDUX4核酸を標的とするRNAi化合物の設計

ヒトDUX4核酸に相補的なアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド及びこのアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドに相補的なセンスRNAiオリゴヌクレオチドを含むRNAi化合物を以下のように設計した。

20

【0651】

「開始部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も5'側のヌクレオチドを示す。「終結部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も3'側のヌクレオチドを示す。以下の表に記載されている各アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、配列番号1(本明細書の上記)、及び配列番号2(本明細書の上記)に100%相補的である。

【0652】

以下の表に含まれるアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、19ヌクレオチド長であり、このアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの糖モチーフは(5'から3'へ)：rrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrであり、ここで、各「r」は、リボシル糖部分を表す。これらのアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合モチーフは(5'から3'へ)：ooooooooooooooooooooooooooooooooであり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオチド間結合を表す。

30

【0653】

以下の表に含まれるセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、19ヌクレオチド長であり、このアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの糖モチーフは(5'から3'へ)：rrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrであり、ここで、各「r」は、リボシル糖部分を表す。これらのアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合モチーフは(5'から3'へ)：ooooooooooooooooooooooooooooooooであり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオチド間結合を表す。

40

【0654】

このセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドに100%相補的である(5'から3'へ)。

【0655】

50

【表 2 1】

表 21  
ヒト DUX4 を標的とする RNAi 化合物の設計

| 二重鎖化合物番号 | アンチセンス鎖化合物番号 | アンチセンス鎖配列 (5'から 3')         | 配列番号 | 配列番号 1<br>アンチセンス開始部位 | 配列番号 1<br>アンチセンス終結部位 | 配列番号 2<br>アンチセンス開始部位 | 配列番号 2<br>アンチセンス終結部位 | センス鎖化合物番号 | センス鎖配列 (5'から 3')            | 配列番号 |
|----------|--------------|-----------------------------|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------|-----------------------------|------|
| 1586341  | 1586147      | UUCCGCUC<br>AAAGCAGG<br>CUC | 1174 | 2877                 | 2895                 | 104                  | 122                  | 1586339   | GAGCCUG<br>CUUUGAG<br>CGGAA | 1175 |

10

## 【0656】

実施例 11：ヒト DUX4 核酸を標的とする RNAi 化合物の設計

ヒト DUX4 核酸に相補的なアンチセンス RNAi オリゴヌクレオチド及びこのアンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドに相補的なセンス RNAi オリゴヌクレオチドを含む RNAi 化合物を以下のように設計した。

## 【0657】

「開始部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドが相補的である最も 5' 側のヌクレオチドを示す。「終結部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドが相補的である最も 3' 側のヌクレオチドを示す。以下の表に記載されている各アンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドは、配列番号 1（本明細書の上記）、配列番号 2（本明細書の上記）、またはその両方に 100% 相補的である。「N/A」は、アンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドがその特定の標的核酸配列に 100% 相補的ではないことを示す。

20

## 【0658】

以下の表に含まれるアンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドは、23ヌクレオチド長であり、このアンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドの糖モチーフは（5' から 3' へ）、y f y f y f y f y f y f y f y f y y y であり、ここで、各「y」は、2' -O-メチルリボシル糖部分を表し、各「f」は、2' -フルオロリボシル糖部分を表す。これらのアンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合モチーフは（5' から 3' へ）、s s o o o o o o o o o o o o o o o s s であり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオチド間結合を表し、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合を表す。

30

## 【0659】

以下の表に含まれるセンス RNAi オリゴヌクレオチドは、21ヌクレオチド長であり、このアンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドの糖モチーフは（5' から 3' へ）、f y f y f y f y f y f y f y f y f であり、ここで、各「y」は、2' -O-メチルリボシル糖部分を表し、各「f」は、2' -フルオロリボシル糖部分を表す。これらのアンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合モチーフは（5' から 3' へ）、s s o o o o o o o o o o o o o o o s s であり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオチド間結合を表し、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合を表す。

40

## 【0660】

各センス RNAi オリゴヌクレオチドは、アンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドの最初の 21ヌクレオチド（5' から 3'）に相補的であり、アンチセンス RNAi オリゴヌクレオチドの最後の 2つの 3' -ヌクレオチドは、非対オーバーハングヌクレオチドである。

## 【0661】

50

【表 2 2 - 1】

表 22.

ヒト DUX4、配列番号 1 及び／または配列番号 2 を標的とする RNAi 化合物の設計

| 二重鎖<br>化合物<br>番号 | アンチ<br>センス鎖<br>化合物<br>番号 | アンチ<br>センス鎖<br>配列<br>(5'から 3')   | 配列<br>番号 | 配列<br>番号 1<br>アンチ<br>センス<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 1<br>アンチ<br>センス<br>終結<br>部位 | 配列<br>番号 2<br>アンチ<br>センス<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 2<br>アンチ<br>センス<br>終結<br>部位 | センス鎖<br>化合物<br>番号 | センス鎖<br>配列<br>(5'から 3')        | 配列<br>番号 |
|------------------|--------------------------|----------------------------------|----------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------------------|----------|
| 1588121          | 1588119                  | UUUAAUUAU<br>AUCUCUGA<br>ACUAAUC | 1176     | 4797                                 | 4819                                 | 1662                                 | 1684                                 | 1588120           | UUAGUUCA<br>GAGAUUAU<br>UUAAA  | 1242     |
| 1588124          | 1588122                  | AUCUCUGA<br>ACUAAUCA<br>UCCAGGA  | 1177     | 4789                                 | 4811                                 | 1654                                 | 1676                                 | 1588123           | CUGGAUGA<br>UUAGUUCA<br>GAGAU  | 1243     |
| 1588127          | 1588125                  | ACUAAUCA<br>UCCAGGAG<br>AUGUAAC  | 1178     | 4781                                 | 4803                                 | 1646                                 | 1668                                 | 1588126           | UACAUCUC<br>CUGGAUGA<br>UUAGU  | 1244     |
| 1588130          | 1588128                  | UCCAGGAG<br>AUGUAACU<br>CUAAUCC  | 1179     | 4773                                 | 4795                                 | 1638                                 | 1660                                 | 1588129           | AUUAGAGU<br>UACAUCUC<br>CUGGA  | 1245     |
| 1588133          | 1588131                  | AUGUAACU<br>CUAAUCCA<br>GGUUUGC  | 1180     | 4765                                 | 4787                                 | 1630                                 | 1652                                 | 1588132           | AAACCUUG<br>AUUAGAGU<br>UACAU  | 1246     |
| 1588142          | 1588140                  | UAGACAGC<br>GUCGGAAG<br>GUGGGGG  | 1181     | 4741                                 | 4763                                 | 1606                                 | 1628                                 | 1588141           | CCCACCUU<br>CCGACGCU<br>GUCUA  | 1247     |
| 1588151          | 1588149                  | AGACAUUC<br>AGCCAGAA<br>UUUCACG  | 1182     | 4717                                 | 4739                                 | 1582                                 | 1604                                 | 1588150           | UGAAAUUC<br>UGGCUGAA<br>UGUCU  | 1248     |
| 1588154          | 1588152                  | AGCCAGAA<br>UUUCACGG<br>AAGAACA  | 1183     | 4709                                 | 4731                                 | 1574                                 | 1596                                 | 1588153           | UUCUUCUG<br>UGAAAUUC<br>UGGCU  | 1249     |
| 1588157          | 1588155                  | UUUCACGG<br>AAGAACAA<br>GGGCACA  | 1184     | 4701                                 | 4723                                 | 1566                                 | 1588                                 | 1588156           | UGCCCUUG<br>UUCUUCUG<br>UGAAA  | 1250     |
| 1588160          | 1588158                  | AAGAACAA<br>GGGCACAG<br>AGAGGCC  | 1185     | 4693                                 | 4715                                 | 1558                                 | 1580                                 | 1588159           | CCUCUCUG<br>UGCCCUUG<br>UUCUU  | 1251     |
| 1588166          | 1588164                  | AGAGGCCA<br>GCGAGCUC<br>CCUUGCA  | 1186     | 4677                                 | 4699                                 | 1542                                 | 1564                                 | 1588165           | CAAGGGAG<br>CUCGUGG<br>CCUCU   | 1252     |
| 1588190          | 1588188                  | UGGGCCGG<br>CUCUGGGA<br>UCCCCGG  | 1187     | 4251                                 | 4273                                 | 1478                                 | 1500                                 | 1588189           | GGGGAUCC<br>CAGAGCCG<br>GCCCCA | 1253     |
| 1588196          | 1588194                  | UCCCCGGG<br>AUGCCCAG<br>GAAAGAA  | 1188     | 4235                                 | 4257                                 | 1462                                 | 1484                                 | 1588195           | CUUUCUG<br>GGCAUCCC<br>GGGGA   | 1254     |

【 0 6 6 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 2】

|         |         |                                  |      |      |      |      |      |         |                                |      |
|---------|---------|----------------------------------|------|------|------|------|------|---------|--------------------------------|------|
| 1588226 | 1588224 | UCCUCCAG<br>CAGAGCCC<br>GGUAUUC  | 1189 | 4019 | 4041 | 1246 | 1268 | 1588225 | AUACCGGG<br>CUCUGCUG<br>GAGGA  | 1255 |
| 1588235 | 1588233 | UCCUCGCU<br>GAGGGGUG<br>CUUCCAG  | 1190 | 3995 | 4017 | 1222 | 1244 | 1588234 | GGAAGCAC<br>CCCUCAGC<br>GAGGA  | 1256 |
| 1588250 | 1588248 | AGGCCUCC<br>AGCUCCCC<br>CGGGGCC  | 1191 | 3955 | 3977 | 1182 | 1204 | 1588249 | CCCCGGGG<br>GAGCUGGA<br>GGCCU  | 1257 |
| 1588253 | 1588251 | AGCUCCCC<br>CGGGGCCU<br>CCGUUUC  | 1192 | 3947 | 3969 | 1174 | 1196 | 1588252 | AACGGAGG<br>CCCCGGGG<br>GAGCU  | 1258 |
| 1588262 | 1588260 | AGGAGAGG<br>UUGC GCCU<br>GCUGCAG | 1193 | 3923 | 3945 | 1150 | 1172 | 1588261 | GCAGCAGG<br>CGCAACCU<br>CUCCU  | 1259 |
| 1588265 | 1588263 | UUGC GCCU<br>GCUGCAGA<br>AACUCCG | 1194 | 3915 | 3937 | 1142 | 1164 | 1588264 | GAGUUUCU<br>GCAGCAGG<br>CGCAA  | 1260 |
| 1588271 | 1588269 | AACUCCGG<br>GCUCGCCA<br>GGAGCUC  | 1195 | 3899 | 3921 | 1126 | 1148 | 1588270 | GCUCCUGG<br>CGAGCCCG<br>GAGUU  | 1261 |
| 1588280 | 1588278 | UCCAGCAG<br>CAGGCCGC<br>AGGGGAG  | 1196 | 3875 | 3897 | 1102 | 1124 | 1588279 | CCCUGCG<br>GCCUGCUG<br>CUGGA   | 1262 |
| 1588286 | 1588284 | AGGGGAGU<br>GCAGACCA<br>GGGCGCC  | 1197 | 3859 | 3881 | 1086 | 1108 | 1588285 | CGCCCUUG<br>UCUGCACU<br>CCCCU  | 1263 |
| 1588298 | 1588296 | AGCGCCUG<br>GGAGGGCG<br>CCGGGAU  | 1198 | 3827 | 3849 | 1054 | 1076 | 1588297 | CCCGGCCG<br>CCUCCAG<br>GCGCU   | 1264 |
| 1588328 | 1588326 | AGGUGGAG<br>CUGCCCCG<br>GCUUGGG  | 1199 | 3747 | 3769 | 974  | 996  | 1588327 | CAAGCCGG<br>GGCAGCUC<br>CACCU  | 1265 |
| 1588338 | 1588336 | UUCCACG<br>CCGCCCCG<br>GCGACCU   | 1200 | 3723 | 3745 | 950  | 972  | 1588337 | GUCGCCGG<br>GGCGGCGU<br>GGGAA  | 1266 |
| 1588383 | 1588381 | UGCCACCG<br>CGCAGGGG<br>CCCGGCA  | 1201 | 3603 | 3625 | 830  | 852  | 1588382 | CCGGGCCC<br>CUGC GCGG<br>UGGCA | 1267 |
| 1588398 | 1588396 | UCCCGGUC<br>CUCCCGGC<br>UUUUGCC  | 1202 | 3563 | 3585 | 790  | 812  | 1588397 | CAAAAGCC<br>GGGAGGAC<br>CGGGA  | 1268 |
| 1588416 | 1588414 | UGAGGGUG<br>GGAGAGCG<br>CCCCGUC  | 1203 | 3515 | 3537 | 742  | 764  | 1588415 | CGGGGCGC<br>UCUCCAC<br>CCUCA   | 1269 |
| 1588434 | 1588432 | AAAUCCCC<br>GCGCGCCG<br>GGGCAGG  | 1204 | 3467 | 3489 | 694  | 716  | 1588433 | UGCCCCGG<br>CGCGCGGG<br>GAUUU  | 1270 |

【 0 6 6 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 3】

|         |         |                                  |      |      |      |     |     |         |                               |      |
|---------|---------|----------------------------------|------|------|------|-----|-----|---------|-------------------------------|------|
| 1588443 | 1588441 | UGGGAGAU<br>CCCCUCUG<br>CCGGCGC  | 1205 | 3443 | 3465 | 670 | 692 | 1588442 | GCCGGCAG<br>AGGGGAUC<br>UCCCA | 1271 |
| 1588470 | 1588468 | AAAGCCCC<br>CUGUGGGA<br>GAGCCCC  | 1206 | 3371 | 3393 | 598 | 620 | 1588469 | GGCUCUCC<br>CACAGGGG<br>GCUUU | 1272 |
| 1588494 | 1588492 | ACGCGCCG<br>GUGUGGGC<br>GAAGGCG  | 1207 | 3307 | 3329 | 534 | 556 | 1588493 | CCUUCGCC<br>CACACCGG<br>CGCGU | 1273 |
| 1588524 | 1588522 | UGC GCGGG<br>CGCCUCG<br>CACCCUG  | 1208 | 3227 | 3249 | 454 | 476 | 1588523 | GGGUGGCA<br>GGGCGCCC<br>GCGCA | 1274 |
| 1588539 | 1588537 | UUCGAUUC<br>UGAAACCA<br>GAUCUGA  | 1209 | 3187 | 3209 | 414 | 436 | 1588538 | AGAUCUGG<br>UUUCAGAA<br>UCGAA | 1275 |
| 1588542 | 1588540 | UGAAACCA<br>GAUCUGAA<br>UCCUGGA  | 1210 | 3179 | 3201 | 406 | 428 | 1588541 | CAGGAUUC<br>AGAUCUGG<br>UUUCA | 1276 |
| 1588548 | 1588546 | UCCUGGAC<br>UCCGGGAG<br>GCCCGUC  | 1211 | 3163 | 3185 | 390 | 412 | 1588547 | CGGGCCUC<br>CCGGAGUC<br>CAGGA | 1277 |
| 1588551 | 1588549 | UCCGGGAG<br>GCCCGUCU<br>CUCUGGC  | 1212 | 3155 | 3177 | 382 | 404 | 1588550 | CAGAGAGA<br>CGGGCCUC<br>CCGGA | 1278 |
| 1588560 | 1588558 | AGCUCCUC<br>CCGGGCGG<br>CGAUGCC  | 1213 | 3131 | 3153 | 358 | 380 | 1588559 | CAUCGCCG<br>CCCGGGAG<br>GAGCU | 1279 |
| 1588572 | 1588570 | AUCCUUCU<br>CAAAGGCU<br>CGGAGGA  | 1214 | 3099 | 3121 | 326 | 348 | 1588571 | CUCCGAGC<br>CUUUGAGA<br>AGGAU | 1280 |
| 1588584 | 1588582 | UCUGGGAU<br>CCGGUGAC<br>GGCGGUC  | 1215 | 3067 | 3089 | 294 | 316 | 1588583 | CCGCCGUC<br>ACCGGAUC<br>CCAGA | 1281 |
| 1588599 | 1588597 | UGGCGGGC<br>CGCGUCUC<br>CCGGGCC  | 1216 | 3027 | 3049 | 254 | 276 | 1588598 | CCCGGGAG<br>ACGCGGCC<br>CGCCA | 1282 |
| 1588611 | 1588609 | AUUC CCGC<br>CGGUGCUG<br>CCUCAGC | 1217 | 2995 | 3017 | 222 | 244 | 1588610 | UGAGGCAG<br>CACCGGCG<br>GGAAU | 1283 |
| 1588629 | 1588627 | AAAUCUGG<br>ACCCUGGG<br>CUCCGGA  | 1218 | 2947 | 2969 | 174 | 196 | 1588628 | CGGAGCCC<br>AGGGUCCA<br>GAUUU | 1284 |
| 1588632 | 1588630 | ACCCUGGG<br>CUCCGGA<br>UGCCGAU   | 1219 | 2939 | 2961 | 166 | 188 | 1588631 | CGGCAUUC<br>CGGAGCCC<br>AGGGU | 1285 |
| 1588638 | 1588636 | UGCCGAUG<br>GCCUGGGC<br>CAGCCGU  | 1220 | 2923 | 2945 | 150 | 172 | 1588637 | GGCUGGCC<br>CAGGCCAU<br>CGGCA | 1286 |

【 0 6 6 4】

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 4】

|         |         |                                 |      |      |      |      |      |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|------|------|---------|-------------------------------|------|
| 1588659 | 1588657 | UCAAAGCA<br>GGCUCGCA<br>GGGCCUC | 1221 | 2867 | 2889 | 94   | 116  | 1588658 | GGCCCUGC<br>GAGCCUGC<br>UUUGA | 1287 |
| 1588674 | 1588672 | AAACGAGU<br>CUCCGUCG<br>CCGUCCU | 1222 | 2827 | 2849 | 54   | 76   | 1588673 | GACGGCGA<br>CGGAGACU<br>CGUUU | 1288 |
| 1588692 | 1588690 | UGCUGUCC<br>GAGGGUGU<br>CGGGAGG | 1223 | 2779 | 2801 | 6    | 28   | 1588691 | UCCCCACA<br>CCCUCGGA<br>CAGCA | 1289 |
| 1588710 | 1588708 | AUUUCACG<br>GACGGACG<br>CGGGCAG | 1224 | 2731 | 2753 | N/A  | N/A  | 1588709 | GCCCCGCU<br>CCGUCCGU<br>GAAAU | 1290 |
| 1588749 | 1588747 | AGCCAGCC<br>AGCCAGCC<br>GCCCUUG | 1225 | 2623 | 2645 | N/A  | N/A  | 1588748 | AGGGCGGC<br>UGGCUGGC<br>UGGCU | 1291 |
| 1588752 | 1588750 | AGCCAGCC<br>GCCCUUGU<br>AAAGGCC | 1226 | 2615 | 2637 | N/A  | N/A  | 1588751 | CCUUUACA<br>AGGGCGGC<br>UGGCU | 1292 |
| 1588758 | 1588756 | AGGGGGCA<br>UUUUAAUA<br>UAUCUCU | 1227 | 4806 | 4828 | 1671 | 1693 | 1588757 | AGAUUAUA<br>UAAAAUGC<br>CCCCU | 1293 |
| 1588764 | 1588762 | AAUCCAGG<br>UUUGCCUA<br>GACAGCG | 1228 | 4755 | 4777 | 1620 | 1642 | 1588763 | CUGUCUAG<br>GCAAACCU<br>GGAUU | 1294 |
| 1588767 | 1588765 | ACAGCGUC<br>GGAAGGUG<br>GGGGGAG | 1229 | 4738 | 4760 | 1603 | 1625 | 1588766 | CCCCCAC<br>CUUCCGAC<br>GCUGU  | 1295 |
| 1588776 | 1588774 | AAGGGCAC<br>AGAGAGGC<br>CAGCGAG | 1230 | 4687 | 4709 | 1552 | 1574 | 1588775 | CGCUGGCC<br>UCUCUGUG<br>CCCUU | 1296 |
| 1588779 | 1588777 | AGCGAGCU<br>CCCUUGCA<br>CGUCAGC | 1231 | 4670 | 4692 | 1535 | 1557 | 1588778 | UGACGUGC<br>AAGGGAGC<br>UCGCU | 1297 |
| 1588788 | 1588786 | UGGGAUCC<br>CCGGGAUG<br>CCCAGGA | 1232 | 4240 | 4262 | 1467 | 1489 | 1588787 | CUGGGCAU<br>CCCGGGGA<br>UCCCA | 1298 |
| 1588794 | 1588792 | UUCUCCGC<br>GGAGUGGA<br>GUCUCUC | 1233 | 4206 | 4228 | N/A  | N/A  | 1588793 | GAGACUCC<br>ACUCCGCG<br>GAGAA | 1299 |
| 1588797 | 1588795 | UCUCUCAC<br>CGGGCCUA<br>GACCUAG | 1234 | 4189 | 4211 | 1416 | 1438 | 1588796 | AGGUCUAG<br>GCCCCGUG<br>AGAGA | 1300 |
| 1588800 | 1588798 | ACCUAGAA<br>GGCAGGAA<br>UCCCAGG | 1235 | 4172 | 4194 | 1399 | 1421 | 1588799 | UGGGAUUC<br>CUGCCUUC<br>UAGGU | 1301 |
| 1588812 | 1588810 | UAGCCAGC<br>CAGGUGUU<br>CCCCGCG | 1236 | 4104 | 4126 | 1331 | 1353 | 1588811 | CGGGGAAC<br>ACCUGGCU<br>GGCUA | 1302 |

【 0 6 6 5 】

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 5】

|         |         |                                 |      |     |     |      |      |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|-----|-----|------|------|---------|-------------------------------|------|
| 1588181 | 1588179 | ACUGCGCG<br>CAGGUCUG<br>CUGGUAC | 1237 | N/A | N/A | 1502 | 1524 | 1588180 | ACCAGCAG<br>ACCUGCGC<br>GCAGU | 1303 |
| 1588199 | 1588197 | AUGCCCAG<br>GAAAGAAU<br>GGCAGUU | 1238 | N/A | N/A | 1454 | 1476 | 1588198 | CUGCCAUU<br>CUUUCCUG<br>GGCAU | 1304 |
| 1588208 | 1588206 | UCCGCGGU<br>GUGGAGUC<br>UCUCACC | 1239 | N/A | N/A | 1430 | 1452 | 1588207 | UGAGAGAC<br>UCCACACC<br>GCGGA | 1305 |
| 1588404 | 1588402 | UUUUGCCC<br>GGGUGCGG<br>AGGCCAG | 1240 | N/A | N/A | 774  | 796  | 1588403 | GGCCUCCG<br>CACCCGGG<br>CAAAA | 1306 |
| 1588410 | 1588408 | AGGCCAGC<br>GAGGAGCC<br>UGAGGGU | 1241 | N/A | N/A | 758  | 780  | 1588409 | CCUCAGGC<br>UCCUCGCU<br>GGCCU | 1307 |

10

## 【0 6 6 6】

「開始部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も5'側のヌクレオシドを示す。「終結部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に記載されているアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、配列番号4（GENBANKアクセッション番号NM\_001293798.2）に100%相補的である。

20

## 【0 6 6 7】

## 【表 2 3】

表 23.

ヒトDUX4、配列番号4を標的とするRNAi化合物の設計

| 二重鎖化合物番号 | アンチセンス鎖化合物番号 | アンチセンス鎖配列(5'から3')               | 配列番号 | 配列番号4アンチセンス開始部位 | 配列番号4アンチセンス終結部位 | センス鎖化合物番号 | センス鎖配列(5'から3')                | 配列番号 |
|----------|--------------|---------------------------------|------|-----------------|-----------------|-----------|-------------------------------|------|
| 1588214  | 1588212      | UCUCACCG<br>GGCCUAGA<br>CCCCGCG | 1308 | 1278            | 1300            | 1588213   | CGGGGUCU<br>AGGCCCGG<br>UGAGA | 1309 |

30

## 【0 6 6 8】

## 実施例 12：ヒトDUX4核酸を標的とするRNAi化合物の設計

ヒトDUX4核酸に相補的なアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド及びこのアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドに相補的なセンスRNAiオリゴヌクレオチドを含むRNAi化合物を以下のように設計した。

40

## 【0 6 6 9】

「開始部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も5'側のヌクレオシドを示す。「終結部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に記載されている各アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの1位（5'から3'）に単一のミスマッチを有することを除いて、配列番号1（本明細書の上記）、配列番号2（本明細書の上記）、またはその両方に相補的である。「N/A」は、以下の表に含まれる修飾オリゴヌクレオチドがその特定の標的核酸配列に対して2つ以上のミスマッチを有することを示す。

50

## 【0670】

以下の表に含まれるアンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、23ヌクレオシド長であり、このアンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの糖モチーフは(5'から3'へ)、y f y f y f y f y f y f y f y f y y yであり、ここで、各「y」は、2'-O-メチルリボシル糖部分を表し、各「f」は、2'-フルオロリボシル糖部分を表す。これらのアンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフは(5'から3'へ)、s s o o o o o o o o o o o o o o o o s sであり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表し、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す。

## 【0671】

以下の表に含まれるセンスRNA i オリゴヌクレオチドは、21ヌクレオシド長であり、このアンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの糖モチーフは(5'から3'へ)、f y f y f y f y f y f y f y f y f y f y f y fであり、ここで、各「y」は、2'-O-メチルリボシル糖部分を表し、各「f」は、2'-フルオロリボシル糖部分を表す。これらのアンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合モチーフは(5'から3'へ)、s s o o o o o o o o o o o o o o o o s sであり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表し、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す。

## 【0672】

各センスRNA i オリゴヌクレオチドは、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの最初の21ヌクレオシド(5'から3')に相補的であり、アンチセンスRNA i オリゴヌクレオチドの最後の2つの3'-ヌクレオシドは、非対オーバーハングヌクレオシドである。

## 【0673】

10

20

30

40

50

## 【表 2 4 - 1】

表 24.

ヒト DUX4、配列番号 1 及び／または配列番号 2 を標的とする RNAi 化合物の設計

| 二重鎖<br>化合物<br>番号 | アンチ<br>センス鎖<br>化合物<br>番号 | アンチ<br>センス鎖<br>配列<br>(5'から 3')  | 配列<br>番号 | 配列<br>番号 1<br>アンチ<br>センス<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 1<br>アンチ<br>センス<br>終結<br>部位 | 配列<br>番号 2<br>アンチ<br>センス<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号 2<br>アンチ<br>センス<br>終結<br>部位 | センス鎖<br>化合物<br>番号 | センス鎖<br>配列<br>(5'から 3')       | 配列<br>番号 |
|------------------|--------------------------|---------------------------------|----------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|-------------------------------|----------|
| 1588136          | 1588134                  | AUAAUCCA<br>GGUUUGCC<br>UAGACAG | 1310     | 4757                                 | 4778                                 | 1622                                 | 1643                                 | 1588135           | GUCUAGGC<br>AAACCUGG<br>AUUAU | 1474     |
| 1588139          | 1588137                  | AGUUUGCC<br>UAGACAGC<br>GUCGGAA | 1311     | 4749                                 | 4770                                 | 1614                                 | 1635                                 | 1588138           | CCGACGCU<br>GUCUAGGC<br>AAACU | 1475     |
| 1588145          | 1588143                  | AUCGGAAG<br>GUGGGGGG<br>AGACAUU | 1312     | 4733                                 | 4754                                 | 1598                                 | 1619                                 | 1588144           | UGUCUCCC<br>CCCACCUU<br>CCGAU | 1476     |
| 1588148          | 1588146                  | AUGGGGGG<br>AGACAUUC<br>AGCCAGA | 1313     | 4725                                 | 4746                                 | 1590                                 | 1611                                 | 1588147           | UGGCUGAA<br>UGUCUCCC<br>CCCAU | 1477     |
| 1588163          | 1588161                  | AGGCACAG<br>AGAGGCCA<br>GCGAGCU | 1314     | 4685                                 | 4706                                 | 1550                                 | 1571                                 | 1588162           | CUCGCUGG<br>CCUCUCUG<br>UGCCU | 1478     |
| 1588169          | 1588167                  | ACGAGCUC<br>CCUUGCAC<br>GUCAGCC | 1315     | 4669                                 | 4690                                 | 1534                                 | 1555                                 | 1588168           | CUGACGUG<br>CAAGGGAG<br>CUCGU | 1479     |
| 1588172          | 1588170                  | ACUUGCAC<br>GUCAGCCG<br>GGGUGCG | 1316     | 4661                                 | 4682                                 | 1526                                 | 1547                                 | 1588171           | CACCCCGG<br>CUGACGUG<br>CAAGU | 1480     |
| 1588175          | 1588173                  | AUCAGCCG<br>GGGUGCGC<br>ACUGCGC | 1317     | 4653                                 | 4674                                 | 1518                                 | 1539                                 | 1588174           | GCAGUGCG<br>CACCCCGG<br>CUGAU | 1481     |
| 1588178          | 1588176                  | AGGUGCGC<br>ACUGCGCG<br>CAGGUCU | 1318     | 4645                                 | 4666                                 | 1510                                 | 1531                                 | 1588177           | ACCUGCGC<br>GCAGUGCG<br>CACCU | 1482     |
| 1588187          | 1588185                  | AUGGUACC<br>UGGGCCGG<br>CUCUGGG | 1319     | 4259                                 | 4280                                 | 1486                                 | 1507                                 | 1588186           | CAGAGCCG<br>GCCCAGGU<br>ACCAU | 1483     |
| 1588193          | 1588191                  | AUCUGGGA<br>UCCCCGGG<br>AUGCCCA | 1320     | 4243                                 | 4264                                 | 1470                                 | 1491                                 | 1588192           | GGCAUCCC<br>GGGGAUCC<br>CAGAU | 1484     |
| 1588211          | 1588209                  | AUGGAGUC<br>UCUCACCG<br>GGCCUAG | 1321     | 4195                                 | 4216                                 | 1422                                 | 1443                                 | 1588210           | AGGCCCGG<br>UGAGAGAC<br>UCCAU | 1485     |
| 1588220          | 1588218                  | ACCCGCGU<br>CCUAAAGC<br>UCCUCCA | 1322     | 4035                                 | 4056                                 | 1262                                 | 1283                                 | 1588219           | GAGGAGCU<br>UUAGGACG<br>CGGGU | 1486     |

【 0 6 7 4 】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 2】

|         |         |                                 |      |      |      |      |      |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|------|------|---------|-------------------------------|------|
| 1588223 | 1588221 | ACUAAAGC<br>UCCUCCAG<br>CAGAGCC | 1323 | 4027 | 4048 | 1254 | 1275 | 1588222 | CUCUGCUG<br>GAGGAGCU<br>UUAGU | 1487 |
| 1588229 | 1588227 | AAGAGCCC<br>GGUAUUCU<br>UCCUCGC | 1324 | 4011 | 4032 | 1238 | 1259 | 1588228 | GAGGAAGA<br>AUACCGGG<br>CUCUU | 1488 |
| 1588232 | 1588230 | AGUAUUCU<br>UCCUCGCU<br>GAGGGGU | 1325 | 4003 | 4024 | 1230 | 1251 | 1588231 | CCCUCAGC<br>GAGGAAGA<br>AUACU | 1489 |
| 1588238 | 1588236 | AAGGGGUG<br>CUUCCAGC<br>GAGGCGG | 1326 | 3987 | 4008 | 1214 | 1235 | 1588237 | GCCUCGCU<br>GGAAGCAC<br>CCCUU | 1490 |
| 1588241 | 1588239 | AUUCAGC<br>GAGGCGGC<br>CUCUUC   | 1327 | 3979 | 4000 | 1206 | 1227 | 1588240 | AAGAGGCC<br>GCCUCGCU<br>GGAU  | 1491 |
| 1588244 | 1588242 | AAGGCGGC<br>CUCUCCG<br>AGGCCUC  | 1328 | 3971 | 3992 | 1198 | 1219 | 1588243 | GGCCUCGG<br>AAGAGGCC<br>GCCUU | 1492 |
| 1588247 | 1588245 | AUCUCCG<br>AGGCCUCC<br>AGCUCC   | 1329 | 3963 | 3984 | 1190 | 1211 | 1588246 | GAGCUGGA<br>GGCCUCGG<br>AAGAU | 1493 |
| 1588256 | 1588254 | AGGGGCCU<br>CCGUUUCU<br>AGGAGAG | 1330 | 3939 | 3960 | 1166 | 1187 | 1588255 | CUCCUAGA<br>AACGGAGG<br>CCCCU | 1494 |
| 1588259 | 1588257 | ACGUUUCU<br>AGGAGAGG<br>UUGCGCC | 1331 | 3931 | 3952 | 1158 | 1179 | 1588258 | CGCAACCU<br>CUCCUAGA<br>AACGU | 1495 |
| 1588268 | 1588266 | ACUGCAGA<br>AACUCCGG<br>GCUCGCC | 1332 | 3907 | 3928 | 1134 | 1155 | 1588267 | CGAGCCCG<br>GAGUUUCU<br>GCAGU | 1496 |
| 1588274 | 1588272 | ACUCGCCA<br>GGAGCUCA<br>UCCAGCA | 1333 | 3891 | 3912 | 1118 | 1139 | 1588273 | CUGGAUGA<br>GCUCCUGG<br>CGAGU | 1497 |
| 1588277 | 1588275 | AGAGCUCA<br>UCCAGCAG<br>CAGGCCG | 1334 | 3883 | 3904 | 1110 | 1131 | 1588276 | GCCUGCUG<br>CUGGAUGA<br>GCUCU | 1498 |
| 1588283 | 1588281 | AAGGCCGC<br>AGGGGAGU<br>GCAGACC | 1335 | 3867 | 3888 | 1094 | 1115 | 1588282 | UCUGCACU<br>CCCCUGCG<br>GCCUU | 1499 |
| 1588289 | 1588287 | ACAGACCA<br>GGGCGCCG<br>GCUCCUG | 1336 | 3851 | 3872 | 1078 | 1099 | 1588288 | GGAGCCGG<br>CGCCUGG<br>UCUGU  | 1500 |
| 1588292 | 1588290 | AGGCGCCG<br>GCUCCUGG<br>AGCGCCU | 1337 | 3843 | 3864 | 1070 | 1091 | 1588291 | GCGCUCCA<br>GGAGCCGG<br>CGCCU | 1501 |
| 1588295 | 1588293 | ACUCCUGG<br>AGCGCCUG<br>GGAGGGC | 1338 | 3835 | 3856 | 1062 | 1083 | 1588294 | CCUCCCAG<br>GCGCUCCA<br>GGAGU | 1502 |

【 0 6 7 5 】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 3】

|         |         |                                 |      |      |      |      |      |         |                                |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|------|------|---------|--------------------------------|------|
| 1588301 | 1588299 | AGAGGGCG<br>CCGGGAUG<br>CCUUGCA | 1339 | 3819 | 3840 | 1046 | 1067 | 1588300 | CAAGGCAU<br>CCCGGCGC<br>CCUCU  | 1503 |
| 1588304 | 1588302 | ACGGGAUG<br>CCUUGCAU<br>CUGCCCC | 1340 | 3811 | 3832 | 1038 | 1059 | 1588303 | GGCAGAUG<br>CAAGGCAU<br>CCCGU  | 1504 |
| 1588307 | 1588305 | ACUUGCAU<br>CUGCCCCU<br>GCCGCGC | 1341 | 3803 | 3824 | 1030 | 1051 | 1588306 | GCGGCAGG<br>GGCAGAUG<br>CAAGU  | 1505 |
| 1588310 | 1588308 | AUGCCCCU<br>GCCGCGCG<br>GAGGCGG | 1342 | 3795 | 3816 | 1022 | 1043 | 1588309 | GCCUCCGC<br>GCGGCAGG<br>GGCAU  | 1506 |
| 1588313 | 1588311 | ACCGCGCG<br>GAGGCGGA<br>GGCGUCC | 1343 | 3787 | 3808 | 1014 | 1035 | 1588312 | ACGCCUCC<br>GCCUCCGC<br>GCGGU  | 1507 |
| 1588316 | 1588314 | AAGGCGGA<br>GGCGUCCG<br>GGGCGCG | 1344 | 3779 | 3800 | 1006 | 1027 | 1588315 | GCCCCCGG<br>ACGCCUCC<br>GCCUU  | 1508 |
| 1588319 | 1588317 | AGCGUCCG<br>GGGGCGCG<br>GGCUGGG | 1345 | 3771 | 3792 | 998  | 1019 | 1588318 | CAGCCCGC<br>GCCCCCGG<br>ACGCU  | 1509 |
| 1588322 | 1588320 | AGGGCGCG<br>GGCUGGGG<br>AGGUGGA | 1346 | 3763 | 3784 | 990  | 1011 | 1588321 | CACCUCCC<br>CAGCCCGC<br>GCCCCU | 1510 |
| 1588325 | 1588323 | AGCUGGGG<br>AGGUGGAG<br>CUGCCCC | 1347 | 3755 | 3776 | 982  | 1003 | 1588324 | GGCAGCUC<br>CACCUCCC<br>CAGCU  | 1511 |
| 1588332 | 1588329 | AUGCCCCG<br>GCUUGGGG<br>UUCCAC  | 1348 | 3739 | 3760 | 966  | 987  | 1588330 | GGAACCC<br>CAAGCCGG<br>GGCAU   | 1512 |
| 1588335 | 1588333 | ACUUGGGG<br>UUCCACG<br>CCGCCCC  | 1349 | 3731 | 3752 | 958  | 979  | 1588334 | GGCGGCGU<br>GGGAACCC<br>CAAGU  | 1513 |
| 1588341 | 1588339 | ACGCCCCG<br>GCGACCUG<br>GGGACCC | 1350 | 3715 | 3736 | 942  | 963  | 1588340 | GUCCCCAG<br>GUCGCCGG<br>GGCGU  | 1514 |
| 1588344 | 1588342 | ACGACCUG<br>GGGACCCC<br>GGCCCCA | 1351 | 3707 | 3728 | 934  | 955  | 1588343 | GGCCCCGG<br>GUCCCCAG<br>GUCGU  | 1515 |
| 1588347 | 1588345 | AGGACCCC<br>GGCCCCAG<br>CCCCACC | 1352 | 3699 | 3720 | 926  | 947  | 1588346 | UGGGGCGU<br>GGGCCGGG<br>GUCCU  | 1516 |
| 1588350 | 1588348 | AGCCCCAG<br>CCCCACCAC<br>GGACUC | 1353 | 3691 | 3712 | 918  | 939  | 1588349 | GUCCGUGG<br>UGGGGCGU<br>GGGCU  | 1517 |
| 1588353 | 1588351 | ACCCACCAC<br>GGACUCCC<br>CUGGGA | 1354 | 3683 | 3704 | 910  | 931  | 1588352 | CCAGGGGA<br>GUCCGUGG<br>UGGGU  | 1518 |

【0 6 7 6】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 4】

|         |         |                                 |      |      |      |     |     |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|-----|-----|---------|-------------------------------|------|
| 1588356 | 1588354 | AGGACUCC<br>CCUGGGAC<br>GUGGGUG | 1355 | 3675 | 3696 | 902 | 923 | 1588355 | CCCACGUC<br>CCAGGGGA<br>GUCCU | 1519 |
| 1588359 | 1588357 | ACUGGGAC<br>GUGGGUGG<br>CGCAAGC | 1356 | 3667 | 3688 | 894 | 915 | 1588358 | UUGCGCCA<br>CCCACGUC<br>CCAGU | 1520 |
| 1588362 | 1588360 | AUGGGUGG<br>CGCAAGCA<br>CCCCUUG | 1357 | 3659 | 3680 | 886 | 907 | 1588361 | AGGGGUGC<br>UUGCGCCA<br>CCCAU | 1521 |
| 1588365 | 1588363 | AGCAAGCA<br>CCCCUUGG<br>CCCUGCG | 1358 | 3651 | 3672 | 878 | 899 | 1588364 | CAGGGCCA<br>AGGGGUGC<br>UUGCU | 1522 |
| 1588368 | 1588366 | ACCCUUGG<br>CCCUGCGG<br>CCCCGCU | 1359 | 3643 | 3664 | 870 | 891 | 1588367 | CGGGGCCG<br>CAGGGCCA<br>AGGGU | 1523 |
| 1588371 | 1588369 | ACCUGCGG<br>CCCCGCUU<br>GAGCGGG | 1360 | 3635 | 3656 | 862 | 883 | 1588370 | CGCUCAAG<br>CGGGGCCG<br>CAGGU | 1524 |
| 1588374 | 1588372 | ACCCGCUU<br>GAGCGGGC<br>CCAGGCU | 1361 | 3627 | 3648 | 854 | 875 | 1588373 | CCUGGGCC<br>CGCUCAAG<br>CGGGU | 1525 |
| 1588377 | 1588375 | AAGCGGGC<br>CCAGGCUG<br>UGCCACC | 1362 | 3619 | 3640 | 846 | 867 | 1588376 | UGGCACAG<br>CCUGGGCC<br>CGCUU | 1526 |
| 1588380 | 1588378 | ACAGGCUG<br>UGCCACCG<br>CGCAGGG | 1363 | 3611 | 3632 | 838 | 859 | 1588379 | CUGCGCGG<br>UGGCACAG<br>CCUGU | 1527 |
| 1588386 | 1588384 | AGCAGGGG<br>CCCGGCAG<br>GCCGUCG | 1364 | 3595 | 3616 | 822 | 843 | 1588385 | ACGGCCUG<br>CCGGGCC<br>CUGCU  | 1528 |
| 1588389 | 1588387 | ACCGGCAG<br>GCCGUCGC<br>GCUGCGG | 1365 | 3587 | 3608 | 814 | 835 | 1588388 | GCAGCGCG<br>ACGGCCUG<br>CCGGU | 1529 |
| 1588392 | 1588390 | ACCGUCGC<br>GCUGCGGG<br>UCCCGGU | 1366 | 3579 | 3600 | 806 | 827 | 1588391 | CGGGACCC<br>GCAGCGCG<br>ACGGU | 1530 |
| 1588395 | 1588393 | ACUGCGGG<br>UCCCGGUC<br>CUCCCGG | 1367 | 3571 | 3592 | 798 | 819 | 1588394 | GGGAGGAC<br>CGGGACCC<br>GCAGU | 1531 |
| 1588401 | 1588399 | AUCCCGGC<br>UUUUGCCC<br>GGGUGCG | 1368 | 3555 | 3576 | 782 | 803 | 1588400 | CACCCGGG<br>CAAAAGCC<br>GGGAU | 1532 |
| 1588413 | 1588411 | AAGGAGCC<br>UGAGGGUG<br>GGAGAGC | 1369 | 3523 | 3544 | 750 | 771 | 1588412 | UCUCCAC<br>CCUCAGGC<br>UCCUU  | 1533 |
| 1588419 | 1588417 | AGAGAGCG<br>CCCCGUCCG<br>GAGGAG | 1370 | 3507 | 3528 | 734 | 755 | 1588418 | CCUCCGGA<br>CGGGGCGC<br>UCUCU | 1534 |

【0 6 7 7】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 5】

|         |         |                                 |      |      |      |     |     |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|-----|-----|---------|-------------------------------|------|
| 1588422 | 1588420 | ACCCGUCC<br>GGAGGAGC<br>CGGGGCG | 1371 | 3499 | 3520 | 726 | 747 | 1588421 | CCCCGGCU<br>CCUCCGGA<br>CGGGU | 1535 |
| 1588425 | 1588423 | AGAGGAGC<br>CGGGGCGG<br>CGUAGGC | 1372 | 3491 | 3512 | 718 | 739 | 1588424 | CUACGCCG<br>CCCCGGCU<br>CCUCU | 1536 |
| 1588428 | 1588426 | AGGGGCGG<br>CGUAGGCG<br>AAAUCCC | 1373 | 3483 | 3504 | 710 | 731 | 1588427 | GAUUUCGC<br>CUACGCCG<br>CCCCU | 1537 |
| 1588431 | 1588429 | AGUAGGCG<br>AAAUCCCC<br>GCGCGCC | 1374 | 3475 | 3496 | 702 | 723 | 1588430 | CGCGCGGG<br>GAUUUCGC<br>CUACU | 1538 |
| 1588437 | 1588435 | ACGCGCCG<br>GGGCAGGU<br>UGGGAGA | 1375 | 3459 | 3480 | 686 | 707 | 1588436 | UCCCAACC<br>UGCCCCGG<br>CGCGU | 1539 |
| 1588440 | 1588438 | AGGCAGGU<br>UGGGAGAU<br>CCCCUCU | 1376 | 3451 | 3472 | 678 | 699 | 1588439 | AGGGGAUC<br>UCCCAACC<br>UGCCU | 1540 |
| 1588446 | 1588444 | ACCCUCUG<br>CCGGCGCG<br>GCCUGGC | 1377 | 3435 | 3456 | 662 | 683 | 1588445 | CAGGCCGC<br>GCCGGCAG<br>AGGGU | 1541 |
| 1588449 | 1588447 | ACGGCGCG<br>GCCUGGCU<br>GGGUGC  | 1378 | 3427 | 3448 | 654 | 675 | 1588448 | AGCCCAGC<br>CAGGCCGC<br>GCCGU | 1542 |
| 1588452 | 1588450 | ACCUGGCU<br>GGGUGCA<br>GCGCGGG  | 1379 | 3419 | 3440 | 646 | 667 | 1588451 | CGCGCUGC<br>AGCCCAGC<br>CAGGU | 1543 |
| 1588455 | 1588453 | AGGUGCA<br>GCGCGGGG<br>GCGGCC   | 1380 | 3411 | 3432 | 638 | 659 | 1588454 | GCCGCCCC<br>CGCGCUGC<br>AGCCU | 1544 |
| 1588458 | 1588456 | ACGCGGGG<br>GCGGCCCU<br>CGCUGCC | 1381 | 3403 | 3424 | 630 | 651 | 1588457 | CAGCGAGG<br>GCCGCCCC<br>CGCGU | 1545 |
| 1588461 | 1588459 | ACGGCCCU<br>CGCUGCCU<br>GGCUCAC | 1382 | 3395 | 3416 | 622 | 643 | 1588460 | GAGCCAGG<br>CAGCGAGG<br>GCCGU | 1546 |
| 1588464 | 1588462 | AGCUGCCU<br>GGCUCACG<br>AAAGCCC | 1383 | 3387 | 3408 | 614 | 635 | 1588463 | GCUUUCGU<br>GAGCCAGG<br>CAGCU | 1547 |
| 1588467 | 1588465 | AGCUCACG<br>AAAGCCCC<br>CUGUGGG | 1384 | 3379 | 3400 | 606 | 627 | 1588466 | CACAGGGG<br>GCUUUCGU<br>GAGCU | 1548 |
| 1588473 | 1588471 | AUGUGGGA<br>GAGCCCCA<br>GGCGCGC | 1385 | 3363 | 3384 | 590 | 611 | 1588472 | GCGCCUGG<br>GGCUCUCC<br>CACAU | 1549 |
| 1588476 | 1588474 | AAGCCCCA<br>GGCGCGCA<br>GGGCACG | 1386 | 3355 | 3376 | 582 | 603 | 1588475 | UGCCCUGC<br>GCGCCUGG<br>GGCUU | 1550 |

【0 6 7 8】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 6】

|         |         |                                  |      |      |      |     |     |         |                               |      |
|---------|---------|----------------------------------|------|------|------|-----|-----|---------|-------------------------------|------|
| 1588479 | 1588477 | AGCGCGCA<br>GGGCACGU<br>GGGGUGC  | 1387 | 3347 | 3368 | 574 | 595 | 1588478 | ACCCACAG<br>UGCCCUGC<br>GCGCU | 1551 |
| 1588482 | 1588480 | AGGCACGU<br>GGGGUGCG<br>GGAAGCC  | 1388 | 3339 | 3360 | 566 | 587 | 1588481 | CUUCCCGC<br>ACCCACAG<br>UGCCU | 1552 |
| 1588485 | 1588483 | AGGGUGCG<br>GGAAGCCC<br>CGUCCCC  | 1389 | 3331 | 3352 | 558 | 579 | 1588484 | GAACGGGG<br>CUUCCCGC<br>ACCCU | 1553 |
| 1588488 | 1588486 | AGAAGCCC<br>CGUUCCCC<br>ACGCGCC  | 1390 | 3323 | 3344 | 550 | 571 | 1588487 | CGCGUGGG<br>GAACGGGG<br>CUUCU | 1554 |
| 1588491 | 1588489 | AGUUCCCC<br>ACGCGCCG<br>GUGUGGG  | 1391 | 3315 | 3336 | 542 | 563 | 1588490 | CACACCGG<br>CGCGUGGG<br>GAACU | 1555 |
| 1588497 | 1588495 | AUGUGGGC<br>GAAGGCGA<br>CCCACGA  | 1392 | 3299 | 3320 | 526 | 547 | 1588496 | GUGGGUCG<br>CCUUCGCC<br>CACAU | 1556 |
| 1588500 | 1588498 | AAAGGCGA<br>CCCACGAG<br>GGAGCAG  | 1393 | 3291 | 3312 | 518 | 539 | 1588499 | GCUCCUC<br>GUGGGUCG<br>CCUUU  | 1557 |
| 1588503 | 1588501 | ACCACGAG<br>GGAGCAGG<br>GUGACCC  | 1394 | 3283 | 3304 | 510 | 531 | 1588502 | GUCACCCU<br>GCUCCUC<br>GUGGU  | 1558 |
| 1588506 | 1588504 | AGAGCAGG<br>GUGACCCC<br>CGCCGGG  | 1395 | 3275 | 3296 | 502 | 523 | 1588505 | CGGCGGGG<br>GUCACCCU<br>GCUCU | 1559 |
| 1588509 | 1588507 | AUGACCCC<br>CGCCGGGG<br>GCCGCGC  | 1396 | 3267 | 3288 | 494 | 515 | 1588508 | GCGGCCCC<br>CGGCGGGG<br>GUCAU | 1560 |
| 1588512 | 1588510 | AGCCGGGG<br>GCCGCGCU<br>GCACAGG  | 1397 | 3259 | 3280 | 486 | 507 | 1588511 | UGUGCAGC<br>GCGGCCCC<br>CGGCU | 1561 |
| 1588515 | 1588513 | ACCGCGCU<br>GCACAGGC<br>CGCCUGC  | 1398 | 3251 | 3272 | 478 | 499 | 1588514 | AGGCGGCC<br>UGUGCAGC<br>GCGGU | 1562 |
| 1588518 | 1588516 | ACACAGGC<br>CGCCUGCC<br>UGC GCGG | 1399 | 3243 | 3264 | 470 | 491 | 1588517 | GCGCAGGC<br>AGGCGGCC<br>UGUGU | 1563 |
| 1588521 | 1588519 | AGCCUGCC<br>UGC GCGGG<br>CGCCUG  | 1400 | 3235 | 3256 | 462 | 483 | 1588520 | GGGCGCCC<br>GCGCAGGC<br>AGGCU | 1564 |
| 1588527 | 1588525 | AGCCCUGC<br>CACCCUGU<br>CCCGGGU  | 1401 | 3219 | 3240 | 446 | 467 | 1588526 | CCGGGACA<br>GGGUGGCA<br>GGGCU | 1565 |
| 1588530 | 1588528 | AACCCUGU<br>CCCGGGUG<br>CCUGGCC  | 1402 | 3211 | 3232 | 438 | 459 | 1588529 | CCAGGCAC<br>CCGGGACA<br>GGGUU | 1566 |

【0 6 7 9】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 7】

|         |         |                                 |      |      |      |     |     |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|-----|-----|---------|-------------------------------|------|
| 1588533 | 1588531 | ACCGGGUG<br>CCUGGCC<br>UUCGAUU  | 1403 | 3203 | 3224 | 430 | 451 | 1588532 | UCGAAGGG<br>CCAGGCAC<br>CCGGU | 1567 |
| 1588536 | 1588534 | ACUGGCC<br>UUCGAUUC<br>UGAAACC  | 1404 | 3195 | 3216 | 422 | 443 | 1588535 | UUUCAGAA<br>UCGAAGGG<br>CCAGU | 1568 |
| 1588545 | 1588543 | AAUCUGAA<br>UCCUGGAC<br>UCCGGGA | 1405 | 3171 | 3192 | 398 | 419 | 1588544 | CCGGAGUC<br>CAGGAUUC<br>AGAUU | 1569 |
| 1588554 | 1588552 | ACCCGUCU<br>CUCUGGCC<br>AGCUCCU | 1406 | 3147 | 3168 | 374 | 395 | 1588553 | GAGCUGGC<br>CAGAGAGA<br>CGGGU | 1570 |
| 1588557 | 1588555 | AUCUGGCC<br>AGCUCCUC<br>CCGGGCG | 1407 | 3139 | 3160 | 366 | 387 | 1588556 | CCCGGGAG<br>GAGCUGGC<br>CAGAU | 1571 |
| 1588563 | 1588561 | ACGGGCGG<br>CGAUGCCU<br>GGAAAGC | 1408 | 3123 | 3144 | 350 | 371 | 1588562 | UUUCCAGG<br>CAUCGCCG<br>CCCGU | 1572 |
| 1588566 | 1588564 | AGAUGCCU<br>GGAAAGCG<br>AUCCUUC | 1409 | 3115 | 3136 | 342 | 363 | 1588565 | AGGAUCGC<br>UUUCCAGG<br>CAUCU | 1573 |
| 1588569 | 1588567 | AGAAAGCG<br>AUCCUUCU<br>CAAAGGC | 1410 | 3107 | 3128 | 334 | 355 | 1588568 | CUUUGAGA<br>AGGAUCGC<br>UUUCU | 1574 |
| 1588575 | 1588573 | AAAAGGCU<br>CGGAGGAG<br>CAGGGCG | 1411 | 3091 | 3112 | 318 | 339 | 1588574 | CCCUGCUC<br>CUCCGAGC<br>CUUUU | 1575 |
| 1588578 | 1588576 | AGGAGGAG<br>CAGGGCGG<br>UCUGGGA | 1412 | 3083 | 3104 | 310 | 331 | 1588577 | CCAGACCG<br>CCCUGCUC<br>CUCCU | 1576 |
| 1588581 | 1588579 | AAGGGCGG<br>UCUGGGAU<br>CCGGUGA | 1413 | 3075 | 3096 | 302 | 323 | 1588580 | ACCGGAUC<br>CCAGACCG<br>CCCUU | 1577 |
| 1588587 | 1588585 | ACGGUGAC<br>GGCGGUCC<br>GCUUUCG | 1414 | 3059 | 3080 | 286 | 307 | 1588586 | AAAGCGGA<br>CCGCCGUC<br>ACCGU | 1578 |
| 1588590 | 1588588 | AGCGGUCC<br>GCUUUCGC<br>CGGCCUU | 1415 | 3051 | 3072 | 278 | 299 | 1588589 | GGCCGGCG<br>AAAGCGGA<br>CCGCU | 1579 |
| 1588593 | 1588591 | ACUUUCGC<br>CGGCCUUC<br>UGGCGGG | 1416 | 3043 | 3064 | 270 | 291 | 1588592 | CGCCAGAA<br>GGCCGGCG<br>AAAGU | 1580 |
| 1588596 | 1588594 | AGGCCUUC<br>UGGCGGGC<br>CGCGUCU | 1417 | 3035 | 3056 | 262 | 283 | 1588595 | ACGCCGCC<br>CGCCAGAA<br>GGCCU | 1581 |
| 1588602 | 1588600 | AGCGUCUC<br>CCGGGCCA<br>GGGCCGA | 1418 | 3019 | 3040 | 246 | 267 | 1588601 | GGCCCUGG<br>CCCGGGAG<br>ACGCU | 1582 |

10

20

30

40

【0 6 8 0】

50

【表 2 4 - 8】

|         |         |                                 |      |      |      |     |     |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|-----|-----|---------|-------------------------------|------|
| 1588605 | 1588603 | ACGGGCCA<br>GGGCCGAG<br>AUUCCCG | 1419 | 3011 | 3032 | 238 | 259 | 1588604 | GGAAUCUC<br>GGCCCUGG<br>CCCCU | 1583 |
| 1588608 | 1588606 | AGGCCGAG<br>AUUCCCGC<br>CGGUGCU | 1420 | 3003 | 3024 | 230 | 251 | 1588607 | CACCGGCG<br>GGAAUCUC<br>GGCCU | 1584 |
| 1588614 | 1588612 | AGGUGCUG<br>CCUCAGCU<br>GGCGUGA | 1421 | 2987 | 3008 | 214 | 235 | 1588613 | ACGCCAGC<br>UGAGGCAG<br>CACCU | 1585 |
| 1588617 | 1588615 | ACUCAGCU<br>GGCGUGAC<br>CUCUCAU | 1422 | 2979 | 3000 | 206 | 227 | 1588616 | GAGAGGUC<br>ACGCCAGC<br>UCAGU | 1586 |
| 1588620 | 1588618 | AGCGUGAC<br>CUCUCAUU<br>CUGAAAC | 1423 | 2971 | 2992 | 198 | 219 | 1588619 | UUCAGAAU<br>GAGAGGUC<br>ACGCU | 1587 |
| 1588623 | 1588621 | AUCUCAUU<br>CUGAAACC<br>AAAUCUG | 1424 | 2963 | 2984 | 190 | 211 | 1588622 | GAUUUGGU<br>UUCAGAAU<br>GAGAU | 1588 |
| 1588626 | 1588624 | AUGAAACC<br>AAAUCUGG<br>ACCCUGG | 1425 | 2955 | 2976 | 182 | 203 | 1588625 | AGGGUCCA<br>GAUUUGGU<br>UUCAU | 1589 |
| 1588635 | 1588633 | AUCCGGAA<br>UGCCGAUG<br>GCCUGGG | 1426 | 2931 | 2952 | 158 | 179 | 1588634 | CAGGCCAU<br>CGGCAUUC<br>CGGAU | 1590 |
| 1588641 | 1588639 | ACCUGGGC<br>CAGCCGUU<br>CUCUGGU | 1427 | 2915 | 2936 | 142 | 163 | 1588640 | CAGAGAAC<br>GGCUGGCC<br>CAGGU | 1591 |
| 1588644 | 1588642 | AAGCCGUU<br>CUCUGGUG<br>GCGAUGC | 1428 | 2907 | 2928 | 134 | 155 | 1588643 | AUCGCCAC<br>CAGAGAAC<br>GGCUU | 1592 |
| 1588647 | 1588645 | AUCUGGUG<br>GCGAUGCC<br>CGGGUAC | 1429 | 2899 | 2920 | 126 | 147 | 1588646 | ACCCGGGC<br>AUCGCCAC<br>CAGAU | 1593 |
| 1588650 | 1588648 | ACGAUGCC<br>CGGGUACG<br>GGUUCCG | 1430 | 2891 | 2912 | 118 | 139 | 1588649 | GAACCCGU<br>ACCCGGGC<br>AUCGU | 1594 |
| 1588653 | 1588651 | AGGGUACG<br>GGUCCGC<br>UCAAAGC  | 1431 | 2883 | 2904 | 110 | 131 | 1588652 | UUUGAGCG<br>GAACCCGU<br>ACCCU | 1595 |
| 1588656 | 1588654 | AGUCCGC<br>UCAAAGCA<br>GGCUCGC  | 1432 | 2875 | 2896 | 102 | 123 | 1588655 | GAGCCUGC<br>UUUGAGCG<br>GAACU | 1596 |
| 1588662 | 1588660 | AGCUCGCA<br>GGGCCUCG<br>CUUUGGC | 1433 | 2859 | 2880 | 86  | 107 | 1588661 | CAAAGCGA<br>GGCCUGC<br>GAGCU  | 1597 |
| 1588665 | 1588663 | AGGCCUCG<br>CUUUGGCU<br>CGGGGUC | 1434 | 2851 | 2872 | 78  | 99  | 1588664 | CCCCGAGC<br>CAAAGCGA<br>GGCCU | 1598 |

【0 6 8 1】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 9】

|         |         |                                 |      |      |      |     |     |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|-----|-----|---------|-------------------------------|------|
| 1588668 | 1588666 | AUUUGGCU<br>CGGGGUCC<br>AAACGAG | 1435 | 2843 | 2864 | 70  | 91  | 1588667 | CGUUUGGA<br>CCCCGAGC<br>CAAAU | 1599 |
| 1588671 | 1588669 | AGGGGUCC<br>AAACGAGU<br>CUCCGUC | 1436 | 2835 | 2856 | 62  | 83  | 1588670 | CGGAGACU<br>CGUUUGGA<br>CCCCU | 1600 |
| 1588677 | 1588675 | AUCCGUCC<br>CCGUCCUC<br>GUCCCCG | 1437 | 2819 | 2840 | 46  | 67  | 1588676 | GGGACGAG<br>GACGGCGA<br>CGGAU | 1601 |
| 1588680 | 1588678 | ACGUCCUC<br>GUCCCCGG<br>GCUUCCG | 1438 | 2811 | 2832 | 38  | 59  | 1588679 | GAAGCCCG<br>GGGACGAG<br>GACGU | 1602 |
| 1588683 | 1588681 | AUCCCCGG<br>GCUUCCGC<br>GGGGAGG | 1439 | 2803 | 2824 | 30  | 51  | 1588682 | UCCCCGCG<br>GAAGCCCG<br>GGGAU | 1603 |
| 1588686 | 1588684 | ACUUCCGC<br>GGGGAGGG<br>UGCUGUC | 1440 | 2795 | 2816 | 22  | 43  | 1588685 | CAGCACCC<br>UCCCCGCG<br>GAAGU | 1604 |
| 1588689 | 1588687 | AGGGAGGG<br>UGCUGUCC<br>GAGGGUG | 1441 | 2787 | 2808 | 14  | 35  | 1588688 | CCCUCGGA<br>CAGCACCC<br>UCCCU | 1605 |
| 1588695 | 1588693 | AAGGGUGU<br>CGGGAGGG<br>CCAUCGC | 1442 | 2771 | 2792 | N/A | N/A | 1588694 | GAUGGCCC<br>UCCCGACA<br>CCCUU | 1606 |
| 1588698 | 1588696 | AGGGAGGG<br>CCAUCGCG<br>GUGAGCC | 1443 | 2763 | 2784 | N/A | N/A | 1588697 | CUCACCGC<br>GAUGGCCC<br>UCCCU | 1607 |
| 1588701 | 1588699 | ACAUCGCG<br>GUGAGCCC<br>CGGCCGG | 1444 | 2755 | 2776 | N/A | N/A | 1588700 | GGCCGGGG<br>CUCACCGC<br>GAUGU | 1608 |
| 1588704 | 1588702 | AUGAGCCC<br>CGGCCGGA<br>AUUUCAC | 1445 | 2747 | 2768 | N/A | N/A | 1588703 | GAAAUUCC<br>GGCCGGGG<br>CUCAU | 1609 |
| 1588707 | 1588705 | AGGCCGGA<br>AUUUCACG<br>GACGGAC | 1446 | 2739 | 2760 | N/A | N/A | 1588706 | CCGUCCGU<br>GAAAUUCC<br>GGCCU | 1610 |
| 1588713 | 1588711 | AACGGACG<br>CGGGCAGA<br>GAGAGGC | 1447 | 2723 | 2744 | N/A | N/A | 1588712 | CUCUCUCU<br>GCCCGCGU<br>CCGUU | 1611 |
| 1588716 | 1588714 | AGGGCAGA<br>GAGAGGCC<br>GGCGGGC | 1448 | 2715 | 2736 | N/A | N/A | 1588715 | CCGCCGGC<br>CUCUCUCU<br>GCCCU | 1612 |
| 1588719 | 1588717 | AAGAGGCC<br>GGCGGGCU<br>CCCGUGC | 1449 | 2707 | 2728 | N/A | N/A | 1588718 | ACGGGAGC<br>CCGCCGGC<br>CUCUU | 1613 |
| 1588722 | 1588720 | AGCGGGCU<br>CCCGUGCA<br>CCUCAGC | 1450 | 2699 | 2720 | N/A | N/A | 1588721 | UGAGGUGC<br>ACGGGAGC<br>CCGCU | 1614 |

【 0 6 8 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 1 0】

|         |         |                                 |      |      |      |      |      |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|------|------|---------|-------------------------------|------|
| 1588725 | 1588723 | ACCGUGCA<br>CCUCAGCC<br>GGACUGU | 1451 | 2691 | 2712 | N/A  | N/A  | 1588724 | AGUCCGGC<br>UGAGGUGC<br>ACGGU | 1615 |
| 1588728 | 1588726 | ACUCAGCC<br>GGACUGUG<br>CACUGCG | 1452 | 2683 | 2704 | N/A  | N/A  | 1588727 | CAGUGCAC<br>AGUCCGGC<br>UGAGU | 1616 |
| 1588731 | 1588729 | AGACUGUG<br>CACUGCGG<br>CAGGUGC | 1453 | 2675 | 2696 | N/A  | N/A  | 1588730 | ACCUGCCG<br>CAGUGCAC<br>AGUCU | 1617 |
| 1588734 | 1588732 | AACUGCGG<br>CAGGUGCA<br>GCCAGGA | 1454 | 2667 | 2688 | N/A  | N/A  | 1588733 | CUGGCUGC<br>ACCUGCCG<br>CAGUU | 1618 |
| 1588737 | 1588735 | AAGGUGCA<br>GCCAGGAG<br>GCCUGCC | 1455 | 2659 | 2680 | N/A  | N/A  | 1588736 | CAGGCCUC<br>CUGGCUGC<br>ACCUU | 1619 |
| 1588740 | 1588738 | ACCAGGAG<br>GCCUGCCC<br>GGACAGC | 1456 | 2651 | 2672 | N/A  | N/A  | 1588739 | UGUCCGGG<br>CAGGCCUC<br>CUGGU | 1620 |
| 1588743 | 1588741 | ACCUGCCC<br>GGACAGCC<br>AGCCAGC | 1457 | 2643 | 2664 | N/A  | N/A  | 1588742 | UGGCUGGC<br>UGUCCGGG<br>CAGGU | 1621 |
| 1588746 | 1588744 | AGACAGCC<br>AGCCAGCC<br>AGCCAGC | 1458 | 2635 | 2656 | N/A  | N/A  | 1588745 | UGGCUGGC<br>UGGCUGGC<br>UGUCU | 1622 |
| 1588755 | 1588753 | AUAUAGGA<br>UCCACAGG<br>GAGGGGG | 1459 | 4823 | 4844 | 1688 | 1709 | 1588754 | CCCUCCCU<br>GUGGAUCC<br>UAUAU | 1623 |
| 1588761 | 1588759 | ACAGGAGA<br>UGUAACUC<br>UAAUCCA | 1460 | 4772 | 4793 | 1637 | 1658 | 1588760 | GAUUAGAG<br>UUACAUCU<br>CCUGU | 1624 |
| 1588770 | 1588768 | AGGGAGAC<br>AUUCAGCC<br>AGAAUUU | 1461 | 4721 | 4742 | 1586 | 1607 | 1588769 | AUUCUGGC<br>UGAAUGUC<br>UCCCU | 1625 |
| 1588773 | 1588771 | AAAUUUCA<br>CGGAAGAA<br>CAAGGGC | 1462 | 4704 | 4725 | 1569 | 1590 | 1588772 | CCUUGUUC<br>UUCCGUGA<br>AAUUU | 1626 |
| 1588785 | 1588783 | AGUACCUG<br>GGCCGGCU<br>CUGGGAU | 1463 | 4257 | 4278 | 1484 | 1505 | 1588784 | CCCAGAGC<br>CGGCCCAG<br>GUACU | 1627 |
| 1588791 | 1588789 | ACAGGAAA<br>GAAAGGCA<br>GUUCUCC | 1464 | 4223 | 4244 | N/A  | N/A  | 1588790 | AGAACUGC<br>CUUUCUUU<br>CCUGU | 1628 |
| 1588803 | 1588801 | ACCAGGCC<br>GGUCAGCC<br>CGGUGGA | 1465 | 4155 | 4176 | 1382 | 1403 | 1588802 | CACCGGGC<br>UGACCGGC<br>CUGGU | 1629 |
| 1588806 | 1588804 | AGUGGAGG<br>GGGCGGGG<br>CGGAGAC | 1466 | 4138 | 4159 | 1365 | 1386 | 1588805 | CUCCGCCC<br>CGCCCCCU<br>CCACU | 1630 |

10

20

30

40

【 0 6 8 3 】

50

【表 2 4 - 1 1】

|         |         |                                 |      |      |      |      |      |         |                               |      |
|---------|---------|---------------------------------|------|------|------|------|------|---------|-------------------------------|------|
| 1588809 | 1588807 | AGAGACAC<br>GCCCCUCCG<br>UAGCCA | 1467 | 4121 | 4142 | 1348 | 1369 | 1588808 | GCUACGGA<br>GGGGCGUG<br>UCUCU | 1631 |
| 1588815 | 1588813 | ACCGCGAA<br>AGAGAGGC<br>CACCGCC | 1468 | 4087 | 4108 | 1314 | 1335 | 1588814 | CGGUGGCC<br>UCUCUUUC<br>GCGGU | 1632 |
| 1588184 | 1588182 | AAGGUCUG<br>CUGGUACC<br>UGGGCCG | 1469 | N/A  | N/A  | 1494 | 1515 | 1588183 | GCCCAGGU<br>ACCAGCAG<br>ACCUU | 1633 |
| 1588202 | 1588200 | AAAAGAAU<br>GGCAGUUC<br>UCCGCGG | 1470 | N/A  | N/A  | 1446 | 1467 | 1588201 | GCGGAGAA<br>CUGCCAUU<br>CUUUU | 1634 |
| 1588205 | 1588203 | AGCAGUUC<br>UCCGCGGU<br>GUGGAGU | 1471 | N/A  | N/A  | 1438 | 1459 | 1588204 | UCCACACC<br>GCGGAGAA<br>CUGCU | 1635 |
| 1588407 | 1588405 | AGGUGCGG<br>AGGCCAGC<br>GAGGAGC | 1472 | N/A  | N/A  | 766  | 787  | 1588406 | UCCUCGCU<br>GGCCUCCG<br>CACCU | 1636 |
| 1588782 | 1588780 | AUGCGCGC<br>AGGUCUGC<br>UGGUACC | 1473 | N/A  | N/A  | 1501 | 1522 | 1588781 | UACCAGCA<br>GACCUGCG<br>CGCAU | 1637 |

10

20

## 【0 6 8 4】

「開始部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も5'側のヌクレオチドを示す。「終結部位」は、ヒト遺伝子配列において、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドが相補的である最も3'側のヌクレオチドを示す。以下の表に記載されているアンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドは、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチドの1位（5'から3'）に単一のミスマッチを有することを除いて、配列番号4（GENBANKアクセッション番号NM\_001293798.2）に相補的である。

## 【0 6 8 5】

## 【表 2 5】

30

表 25.

ヒト DUX4、配列番号 4 を標的とする RNAi 化合物の設計

| 二重鎖<br>化合物<br>番号 | アンチ<br>センス鎖<br>オリゴ<br>ID | アンチ<br>センス鎖<br>配列<br>(5'から 3')   | 配列<br>番号 | 配列<br>番号 4<br>アンチ<br>センス<br>開始部位 | 配列<br>番号 4<br>アンチセ<br>ンス<br>終結部位 | センス鎖<br>オリゴ<br>ID | センス鎖<br>配列<br>(5'から 3')       | 配列<br>番号 |
|------------------|--------------------------|----------------------------------|----------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------------------|----------|
| 1588217          | 1588215                  | AGCCUAGAC<br>CCC GCGUCC<br>UAAAG | 1638     | 1270                             | 1291                             | 1588216           | UUAGGAC<br>GCGGGGU<br>CUAGGCU | 1639     |

40

## 【0 6 8 6】

実施例 13：RNAi 化合物がインビトロ、単回投与でヒト DUX4 RNA に与える影響

本明細書の上記の RNAi 化合物は、54-2 細胞で試験した (Resnick et al., 2019, Cell Reports 29, 1812-1820)。これらの RNAi 化合物を、同じ培養条件を有する一連の実験で試験した。

## 【0 6 8 7】

54-2 細胞を本明細書の上記のように分化させ、Lipofectin を使用して、

50

濃度 200 nM の RNA i 化合物によりトランスフェクトした。約 24 時間の処理期間の後、全 RNA を細胞から単離し、DUX4 RNA レベルを定量的リアルタイム RT-PCR によって測定した。

【0688】

DUX4 RNA は、プライマー・プローブセット RTS40199（本明細書の上記）によって測定した。DUX4 RNA レベルを、RIBOGREEN（登録商標）で測定した全 RNA 含有量に対して正規化した。DUX4 RNA のレベルを、未処理の対照細胞における DUX4 RNA の量に対する DUX4 RNA パーセント（% UTC）として以下の表に示す。各表は、個々のアッセイプレートの結果を表す。「+」がつけられている値は、その RNA i 化合物が、このプライマー・プローブセットのアンプリコン領域に相補的であることを示す。

10

【0689】

20

30

40

50

## 【表 2 6 - 1】

表 26.

分化した 54-2 細胞における RNAi 化合物によるヒト DUX4 RNA の低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 (%<br>UTC) |
|-----------|-----------------|
| 1586340   | 13              |
| 1586341   | 17              |
| 1588142   | 15†             |
| 1588166   | 114†            |
| 1588190   | 140             |
| 1588196   | 66              |
| 1588199   | 76              |
| 1588226   | 107             |
| 1588235   | 85              |
| 1588250   | 110             |
| 1588253   | 109             |
| 1588617   | 83              |
| 1588620   | 45              |
| 1588623   | 8               |
| 1588626   | 13              |
| 1588629   | 259             |
| 1588632   | 64              |
| 1588635   | 137             |
| 1588638   | 97              |
| 1588641   | 130             |
| 1588644   | 60              |
| 1588647   | 110             |
| 1588650   | 72              |
| 1588653   | 74              |
| 1588656   | 43              |
| 1588659   | 96              |
| 1588662   | 56              |
| 1588665   | 57              |
| 1588668   | 78              |
| 1588671   | 68              |
| 1588674   | 21              |
| 1588677   | 100             |
| 1588680   | 92              |
| 1588683   | 93              |
| 1588686   | 73              |
| 1588689   | 111             |
| 1588692   | 52              |
| 1588695   | 93              |

10

20

30

40

【 0 6 9 0 】

【表 2 6 - 2】

|         |     |
|---------|-----|
| 1588698 | 107 |
| 1588701 | 154 |
| 1588704 | 63  |
| 1588707 | 55  |
| 1588710 | 20  |
| 1588713 | 105 |
| 1588716 | 72  |
| 1588719 | 116 |
| 1588722 | 71  |
| 1588725 | 145 |
| 1588728 | 107 |
| 1588731 | 81  |
| 1588734 | 50  |
| 1588737 | 117 |
| 1588740 | 88  |
| 1588743 | 96  |
| 1588746 | 81  |
| 1588749 | 184 |
| 1588752 | 86  |
| 1588755 | 79  |
| 1588758 | 23  |
| 1588761 | 11† |
| 1588764 | 26† |
| 1588767 | 56† |
| 1588770 | 48† |
| 1588773 | 12† |
| 1588776 | 68† |
| 1588779 | 221 |
| 1588782 | 96  |
| 1588785 | 83  |
| 1588788 | 102 |
| 1588791 | 133 |
| 1588794 | 90  |
| 1588797 | 107 |
| 1588800 | 116 |
| 1588803 | 130 |
| 1588806 | 49  |
| 1588809 | 80  |
| 1588812 | 108 |
| 1588815 | 81  |

10

20

30

40

【 0 6 9 1】

50

【表 2 7 - 1】

表 27

分化した 54-2 細胞における RNAi 化合物によるヒト DUX4 RNA の低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 (%<br>UTC) |
|-----------|-----------------|
| 1588383   | 216             |
| 1588386   | 86              |
| 1588389   | 108             |
| 1588392   | 170             |
| 1588395   | 150             |
| 1588398   | 129             |
| 1588401   | 175             |
| 1588404   | 85              |
| 1588407   | 53              |
| 1588410   | 120             |
| 1588413   | 62              |
| 1588416   | 92              |
| 1588419   | 50              |
| 1588422   | 80              |
| 1588425   | 75              |
| 1588428   | 93              |
| 1588431   | 29              |
| 1588434   | 45              |
| 1588437   | 50              |
| 1588440   | 93              |
| 1588443   | 51              |
| 1588446   | 110             |
| 1588449   | 79              |
| 1588452   | 111             |
| 1588455   | 88              |
| 1588458   | 145             |
| 1588461   | 59              |
| 1588464   | 86              |
| 1588467   | 16              |
| 1588470   | 72              |
| 1588473   | 108             |
| 1588476   | 110             |
| 1588479   | 40              |
| 1588482   | 112             |
| 1588485   | 90              |
| 1588488   | 56              |
| 1588491   | 44              |
| 1588494   | 101             |

10

20

30

40

【 0 6 9 2 】

【表 2 7 - 2】

|         |     |
|---------|-----|
| 1588497 | 71  |
| 1588500 | 98  |
| 1588503 | 72  |
| 1588506 | 80  |
| 1588509 | 46  |
| 1588512 | 98  |
| 1588515 | 71  |
| 1588518 | 230 |
| 1588521 | 78  |
| 1588524 | 88  |
| 1588527 | 128 |
| 1588530 | 218 |
| 1588533 | 114 |
| 1588536 | 58  |
| 1588539 | 7   |
| 1588542 | 7   |
| 1588545 | 36  |
| 1588548 | 107 |
| 1588551 | 162 |
| 1588554 | 42  |
| 1588557 | 77  |
| 1588560 | 85  |
| 1588563 | 127 |
| 1588566 | 73  |
| 1588569 | 9   |
| 1588572 | 37  |
| 1588575 | 105 |
| 1588578 | 42  |
| 1588581 | 96  |
| 1588584 | 83  |
| 1588587 | 112 |
| 1588590 | 80  |
| 1588593 | 75  |
| 1588596 | 79  |
| 1588599 | 81  |
| 1588602 | 75  |
| 1588605 | 104 |
| 1588608 | 98  |
| 1588611 | 69  |
| 1588614 | 50  |

10

20

30

40

【 0 6 9 3 】

50

【表 2 8 - 1】

表 28

分化した 54-2 細胞における RNAi 化合物によるヒト DUX4 RNA の低減

| 化合物<br>番号 | DUX4 (%<br>UTC) |
|-----------|-----------------|
| 1588121   | 7†              |
| 1588124   | 23†             |
| 1588127   | 5†              |
| 1588130   | 22†             |
| 1588133   | 4†              |
| 1588136   | 25†             |
| 1588139   | 10†             |
| 1588145   | 12†             |
| 1588148   | 39†             |
| 1588151   | 16†             |
| 1588154   | 2†              |
| 1588157   | 12†             |
| 1588160   | 17†             |
| 1588163   | 36†             |
| 1588169   | 76              |
| 1588172   | 44              |
| 1588175   | 92              |
| 1588178   | 58              |
| 1588181   | 77              |
| 1588184   | 115             |
| 1588187   | 95              |
| 1588193   | 75              |
| 1588202   | 94              |
| 1588205   | 48              |
| 1588208   | 87              |
| 1588211   | 99              |
| 1588214   | 112             |
| 1588217   | 79              |
| 1588220   | 90              |
| 1588223   | 75              |
| 1588229   | 34              |
| 1588232   | 36              |
| 1588238   | 41              |
| 1588241   | 50              |
| 1588244   | 131             |
| 1588247   | 32              |
| 1588256   | 63              |
| 1588259   | 49              |

10

20

30

40

【 0 6 9 4】

【表 2 8 - 2】

|         |     |
|---------|-----|
| 1588262 | 51  |
| 1588265 | 78  |
| 1588268 | 55  |
| 1588271 | 82  |
| 1588274 | 62  |
| 1588277 | 83  |
| 1588280 | 71  |
| 1588283 | 40  |
| 1588286 | 20  |
| 1588289 | 109 |
| 1588292 | 102 |
| 1588295 | 146 |
| 1588298 | 60  |
| 1588301 | 85  |
| 1588304 | 89  |
| 1588307 | 29  |
| 1588310 | 84  |
| 1588313 | 33  |
| 1588316 | 53  |
| 1588319 | 152 |
| 1588322 | 11  |
| 1588325 | 236 |
| 1588328 | 91  |
| 1588332 | 105 |
| 1588335 | 109 |
| 1588338 | 109 |
| 1588341 | 193 |
| 1588344 | 91  |
| 1588347 | 43  |
| 1588350 | 76  |
| 1588353 | 123 |
| 1588356 | 57  |
| 1588359 | 88  |
| 1588362 | 83  |
| 1588365 | 126 |
| 1588368 | 129 |
| 1588371 | 31  |
| 1588374 | 117 |
| 1588377 | 59  |
| 1588380 | 80  |

10

20

30

40

【配列表】

2024504377000001.app

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/13323

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 31/7088, A61K 31/712, A61P 21/00, C12N 15/113 (2022.01)

CPC - A61K 31/7088, A61K 31/712, A61K 31/7125, A61K 31/7088, A61P 21/00, C12N 15/113, C12N 2310/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                            | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | US 2018/0273942 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS, INC.) 27 September 2018 (27.09.2018) claims 1-2, claim 8; para [0080]; para [0146] | 1                     |
| Y         |                                                                                                                               | 2, 7/(1-2)            |
| Y         | US 2014/0322169 A1 (HARPER et al.) 30 October 2014 (30.10.2014) Abstract; para [0014]; SEQ ID NO: 4345                        | 2, 7/(1-2)            |
| A         | WO 2020/172559 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS, INC.) 27 August 2020 (27.08.2020), whole document                                   | 1                     |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 April 2022

Date of mailing of the international search report

JUN 10 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/13323

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/13323

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 8-50, 55-64, 68-133  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

-----continued on supplemental sheet-----

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
1-2, 7(in part), limited to SEQ ID NO: 20 and nucleobase sequence that is complementary to nucleobase 2616-2635 of sequence of SEQ ID NO: 1

## Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/13323

## Box III: Observations where unity of invention is lacking:

Group I+: Claims 1-7, 51-54 and 65-67 directed to an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides complementary to an equal length portion of a DUX4 RNA. The oligomeric compound will be searched to the extent wherein nucleobase sequence comprising sequence of SEQ ID NO: 20 and wherein the modified oligonucleotide has a nucleobase sequence that is complementary to nucleobase 2616-2635 of sequence of SEQ ID NO: 1. It is believed that claims 1-2, 7 (in part) encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent wherein nucleobase sequence comprising sequence of SEQ ID NO: 20 and wherein the modified oligonucleotide has a nucleobase sequence that is complementary to nucleobase 2616-2635 of sequence of SEQ ID NO: 1. Additional oligomeric compounds will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected oligomeric compound. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a oligomeric compound will be searched to the extent wherein nucleobase sequence comprising sequence of SEQ ID NO: 248 and wherein the modified oligonucleotide has a nucleobase sequence that is complementary to nucleobase 2899-2914 of sequence of SEQ ID NO: 1 (claims 1, 3, 7 (in part), 51-54).

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

## Special Technical Features

The technical feature of each of the inventions listed as Group I+ is an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide complementary to an equal length portion of a DUX4 RNA recited therein. Each invention requires oligomeric compound sequence, not required by any of the other inventions.

## Common Technical Features

The features shared by the inventions listed as Group I+ are an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides complementary to an equal length portion of a DUX4 RNA.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical features are taught by US 2018/0273942 A1 to Ionis Pharmaceuticals Inc (hereinafter 'Ionis'942') in view of WO 2020/172559 A1 to Ionis Pharmaceuticals, Inc. (hereinafter 'Ionis'559').

Ionis'942 discloses (instant claim 1) an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is at least 80% complementary to an equal length portion of a DUX4 RNA, and wherein the modified oligonucleotide comprises at least one modification selected from a modified sugar moiety and a modified internucleoside linkage (claim 1- "A method of inhibiting expression of DUX4 in a cell, comprising contacting a cell with a double-stranded small interfering RNA, and thereby inhibiting expression of DUX4"; claim 8- "wherein the antisense strand of the double-stranded small interfering RNA comprises a nucleic acid sequence comprising at least 18 contiguous nucleobases of any of the nucleobase sequences"; para [0080]- " may comprise, independently, one or more modifications to a sugar moiety, an internucleoside linkage, or a nucleobase").

Ionis'559 discloses (instant claim 53) an oligomeric compound (claim 35- "An oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide according to the following chemical notation: Ges mCeoAeoTeoAeoTdsGdsGdsTdsTdsTds mCdsTds mCdsAeoTesTesTe") according to the following chemical structure (claim 47).

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I+ therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

## Item 4 (continued)

Claims 8-50, 55-64 and 68-133 are held unsearchable because they are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## フロントページの続き

| (51)国際特許分類        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | F I     | テーマコード (参考) |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-------------|
| A 6 1 K           | 47/54 (2017.01)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | A 6 1 K | 47/54       |
| A 6 1 K           | 47/02 (2006.01)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | A 6 1 K | 47/02       |
| A 6 1 K           | 31/7088(2006.01)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | A 6 1 K | 31/7088     |
| A 6 1 K           | 48/00 (2006.01)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | A 6 1 K | 48/00       |
| (32)優先日           | 令和3年1月22日(2021.1.22)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |         |             |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |         |             |
| (81)指定国・地域        | AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,T,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW |         |             |
|                   | 弁理士 武田 健志                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |         |             |
| (72)発明者           | バラス, ルーベン・イー<br>アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 5 6, オーシャンサイド, クレストビュー・ドライブ 1 4 0 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |         |             |
| (72)発明者           | ジャファー・ネジャド, ペイマン<br>アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |         |             |
| (72)発明者           | リゴ, フランク<br>アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |         |             |
| (72)発明者           | フレアー, スーザン・エム<br>アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |         |             |
| (72)発明者           | ブイ, フィン・ホア<br>アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |         |             |
| (72)発明者           | シング, プリヤム<br>アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 1 2 9, サンディエゴ, リドリー・ロード 1 3 5 0 4                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |         |             |
| F ターム (参考)        | 4C076 AA94 BB01 BB11 CC09 CC29 DD26 DD26Z FF12 FF13 FF31<br>FF61<br>4C084 AA13 MA05 MA16 MA23 MA28 MA35 MA37 MA52 MA66 NA05<br>NA10 NA12 NA13 NA14 ZA941 ZA942 ZC021 ZC022<br>4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA02 MA05 NA05 NA10 NA12 NA13<br>NA14 ZA94 ZC02                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |         |             |